Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT
FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND
VERERBUNGSLEHRE

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET
VON
CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN
G. MELCHERS · F. OEHLKERS · F. RYAN · H. STUBBE

88. BAND 3. HEFT
MIT 54 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 13. SEPTEMBER 1957)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957

Z. Vererbungslehre

Preis DM 38.80

Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Bornträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind *unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung* an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,
Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,
Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstlergasse 16,
Professor Dr. Alfred Kühn, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Spemannstraße 34,
Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,
Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,
Professor Dr. F. Ryan, Dept. of Zoology, Columbia University in the City of New York, New York 27, USA,
Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Halle), Institut für Kulturpflanzenforschung.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophoto u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

Professor Dr. Georg Melchers, (14b) *Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,*

alle die Zeitschrift betreffenden *geschäftlichen* Mitteilungen an den

Springer-Verlag, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30*

zu senden.

Die geschäftsführenden Herausgeber:
G. Melchers
H. Stubbe

Berlin W 35
Reichpietschufer 20
Fernsprecher: 24 92 51

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Inhaltsverzeichnis auf Seite 3

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 291—332 (1957)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Mainz

ÜBER DIE GESCHLECHTSBEEINFLUSSENDE WIRKUNG VON FARBALLELEN BEI *GAMMARUS PULEX* SSP. *SUBTERRANEUS* (SCHNEIDER)

Von

FRITZ ANDERS

(Eingegangen am 25. Februar 1957)

A. Einleitung

Seit den klassischen Untersuchungen von CORRENS (1907) an *Bryonia* wissen wir, daß das Geschlecht vieler höherer Tiere und Pflanzen mit diplogenotypischer Geschlechtsbestimmung im Sinne des Rückkreuzungsschemas eines monohybriden Bastards mit seinem rezessiven Elter vererbt wird. Abgesehen davon, daß dieses einfache Grundschema in seinen Einzelheiten später eine mannigfaltige Variation erfahren hat, konnte seine prinzipielle Gültigkeit dennoch für so viele Organismen aus den verschiedensten systematischen Gruppen nachgewiesen werden, daß es lange Zeit als der einzige grundlegende Geschlechtsbestimmungsmechanismus der diplogenotypisch geschlechtsbestimmten Organismen angesehen wurde.

Im Verlaufe der letzten zwei Jahrzehnte stellte es sich aber heraus, daß nicht alle getrenntgeschlechtlichen diploiden Organismen diesem monofaktoriellen Erbgang des Geschlechts folgen, obwohl sie genetisch oder doch vorwiegend genetisch und nicht rein modifikatorisch (= phänotypisch; vgl. die Definitionen bei HARTMANN 1956) geschlechtsbestimmt sind. So kamen KOSSWIG und Mitarbeiter (1931ff.) nach langjähriger Geschlechtsbestimmungsanalyse an gewissen Zahnkarpfen zu dem Ergebnis, daß das Geschlecht bei diesen Fischen zwar zumeist genotypisch, jedoch — von dem bekannten Homo-Heterogametie-Schema abweichend — in polyfaktorieller Weise realisiert wird. Dies ist z. B. bei *Xiphophorus helleri* der Fall. Offensichtlich ebenso verhält sich die von BREIDER (1935) geprüfte *Limia vittata*. — Auch der einer ganz anderen Gruppe zugehörige *Macropodus concolor*, den SCHWIER (1939) auf seine Geschlechtsbestimmung prüfte, verhält sich ähnlich.

Zu prinzipiell dem gleichen Ergebnis kommt DE LATTIN auf Grund seiner umfangreichen Untersuchungen (seit 1939) an gewissen Landasseln (Oniscoideen). Diese Tiere besitzen keine Heterochromosomen, ihr Geschlechtsverhältnis wird aber in ganz eindeutiger Weise erblich kontrolliert, und zwar durch bestimmte autosomale Farballele, die das Geschlechtsverhältnis im Zusammenspiel mit einem polyfaktoriellen Realisatorensystem direkt beeinflussen (*Porcellio*, *Tracheoniscus*; DE LATTIN 1951) oder (*Cylisticus convexus*; DE LATTIN 1952) durch ein solches System polymerer Realisatoren allein.

Die eigenen genetischen Untersuchungen an *Gammarus pulex*, die anfänglich mit evolutionistischer Zielsetzung begonnen wurden (ANDERS 1956b), erbrachten dann den zunächst überraschenden Befund, daß auch diese Art polyfaktoriell geschlechtsbestimmt ist und daß hier bestimmte Farballele einer autosomalen

multiplen Allelenreihe (*r*-Serie), die bei Laboratoriumskulturen der ssp. *subterraneus* neben der normalen olivgrauen (r^+) eine braune (R^2) oder rote (r) Körperfarbe bedingen (ANDERS 1956a), als relative männliche Geschlechtsrealisatoren an der Bestimmung und Vererbung des Geschlechts in wechselnder Stärke beteiligt sind.

Die vorliegende Arbeit soll nun vor allen Dingen einen Beitrag zur Verbreitung der polyfaktoriellen Geschlechtsbestimmung im Tierreich liefern. Darüber hinaus soll sie zum Verständnis eines solchen Geschlechtsbestimmungsmodus überhaupt beitragen.

B. Material und Technik

Als Ausgangsmaterial für diese Untersuchungen dienten normale olivgraue (r^+r^+), braune (R^2R^2) und rote (rr) Inzuchtstämme der *r*-Serie (Dominanz: $R^2 > r^+ > r$) von *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus*, die anläßlich einer genetischen Analyse der Variabilität dieser kavernikolen Flohkrebse hergestellt wurden. — Nähere Angaben hierüber, sowie über die Fundorte (Erzbergwerk Grund bei Bad Grund im Harz) und Zuchtmethoden können a. a. O. (ANDERS 1956a) eingesehen werden. Ferner sei auf die entsprechenden Arbeiten von SCHNEIDER (1885a und b), MÜHLMANN (1938) und DE LATTIN (1939) verwiesen.

Da sich die Geschlechter erst zur Zeit der Geschlechtsreife mit Sicherheit unterscheiden lassen, konnte die Geschlechtertrennung und -zählung erst bei adulten Tieren vorgenommen werden. Hierzu diente vor allem das Aussehen der Gonaden selbst, da sich diese dank der Transparenz der Tiere klar von den anderen inneren Organen abheben und leicht als Ovarial- oder Hodenschläuche unterscheidbar sind. — Junge geschlechtsreife ♀♀ und ♂♂ können auch sonst — wenn auch nicht immer mit Sicherheit — durch habituelle Merkmale unterschieden werden. So besitzen die ♀♀ im Gegensatz zu den meist schlankeren ♂♂ eine mehr gedrungene Körperform. Ferner ist das Marsupium der jungen ♀♀ oft schon ohne nähere Untersuchung erkennbar. Schließlich sind die 2. Antennen der ♀♀ stets kurz und dolchförmig, die der ♂♂ dagegen relativ lang und mit einem auffallenden Borstenbesatz versehen (vgl. auch die Abbildungen bei HEINZE 1932 und SCHELLENBERG 1942). Im ganzen stößt also die Auszählung der Geschlechter auf keine nennenswerten Schwierigkeiten.

In der vorliegenden Arbeit wurden lediglich Zuchten mit mindestens 10 Geschwistertieren berücksichtigt. Diese Anzahl reicht erfahrungsgemäß aus, um das tatsächliche Geschlechtsverhältnis einer Nachkommenschaft zu ermitteln. Die durchschnittliche Anzahl der ausgewerteten Nachkommen eines Elternpaares beträgt jedoch etwa 28 Tiere.

C. Das Geschlechtsverhältnis in Wildpopulationen

Als Vorarbeit zu den geplanten Untersuchungen über die Geschlechtsbestimmung von *Gammarus pulex* wurde zunächst eine orientierende Untersuchung des Geschlechtsverhälnisses in wilden Populationen[1] vorgenommen. Wie Tabelle 1 zeigt, ist das Geschlechtsverhältnis in den 3 geprüften oberirdischen Populationen, die in Quellen der näheren Umgebung von Mainz vorkommen, nicht einheitlich. Bei der Rheingoldruhe-Population ist ein annähernd konstantes Verhältnis von 50% ♀♀ : 50% ♂♂ vorhanden, das während der Jahre 1952 und 1953 etwa unverändert bestehenblieb. Es scheint also ein ganz normales Verhältnis vorzuliegen, da ein ungefähres 1 : 1-Verhältnis der Geschlechter als das Ergebnis des üblichen Geschlechtsbestimmungsmodus aufgefaßt werden könnte. Aus den im Verlauf des Jahres etwa gleichbleibenden Männchenindices ergibt sich ferner, daß die Sterberate beider Geschlechter in den Sommer- und Wintermonaten ungefähr gleich hoch sein muß, da sonst eine Verschiebung zu beobachten sein müßte. Den bestehenden leichten Schwankungen ist keine besondere Bedeutung

[1] Die Populationen werden im folgenden stets nach ihren Fundorten benannt.

Tabelle 1. *Das Geschlechtsverhältnis in 3 oberirdischen Populationen*

Zählungen im	Rheingoldruhe 1952			Rheingoldruhe 1953			Gonsenheim-Bahndamm 1953			Gonsenheim-Feld 1953		
	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %
Januar . .	—	—	—	*	*	—	—	—	—	—	—	—
Februar . .	—	—	—	72	66	47,83	—	—	—	—	—	—
März . . .	—	—	—	167	138	45,25	—	—	—	—	—	—
April . . .	391	472	54,69	158	208	56,83	—	—	—	214	224	55,14
Mai	—	—	—	178	101	36,20	490	119	21,18	—	—	—
Juni. . . .	321	258	44,56	44	41	48,23	186	27	12,68	93	100	51,81
Juli	*	*	—	139	126	47,55	893	240	21,18	—	—	—
August . .	93	131	58,48	*54	*62	53,45	*229	*168	42,32	188	169	47,34
September .	385	435	53,05	*26	*67	72,04	370	112	23,24	—	—	—
Oktober . .	231	243	51,27	—	—	—	—	—	—	—	—	—
November .	82	118	59,00	—	—	—	—	—	—	100	81	44,75
Dezember .	*	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Summe	1503	1657	53,51	838	809	50,92	2168	666	24,12	595	574	49,76

* Es wurden relativ wenig adulte Tiere gefangen, juvenile dagegen in sehr großer Anzahl.

beizumessen, da diese auch zufallsbedingt sein könnten. Die Tiere werden lediglich in den ungünstigen Sommer- und Wintermonaten dezimiert, wobei beide Geschlechter in etwa gleichem Ausmaß betroffen werden.

Auch in der Population Gonsenheim-Feld ist ein gutes und dabei konstantes 1 : 1-Geschlechtsverhältnis realisiert.

Ganz anders liegen nun die Dinge in der Population Gonsenheim-Bahndamm. Hier überwiegen die ♀♀ rund um das Dreifache. Da dieses Verhalten von Mai bis September 1953 Monat für Monat bestätigt werden konnte und auch bei späteren Stichproben in den Jahren 1954 und 1955 immer wieder gefunden wurde, ist es zweifellos als real zu betrachten. Dies ist um so merkwürdiger, als beide Gonsenheimer Populationen offensichtlich unter den gleichen Bedingungen (Quellwasser, Temperatur, Nahrung, Licht) leben. Beide sind nur etwa 70 m voneinander entfernt, dabei aber streng voneinander isoliert.

In Tabelle 2 sind die Fangergebnisse aus dem Erzbergwerk Grund zusammengestellt. Natürlich kann die kleine Anzahl der gefangenen Tiere keine sicheren Schlüsse auf das wahre Geschlechtsverhältnis in den unterirdischen Populationen zulassen. Trotzdem dürfte aber daraus zu ersehen sein, daß das Geschlechtsverhältnis in den Populationen der 11. Sohle sowie der 13. Sohle keine Besonderheiten zeigt. Die geringfügige Überzahl der ♂♂ fügt sich ohne weiteres einem normalen Geschlechtsverhältnis ein. Anders verhält sich dagegen die Population des Ernst-August-Stollens. Zwar konnten hier während der ersten beiden Besuche nur 1 ♀ und 5 ♂♂ gefangen werden; es wurden dabei jeweils eine ganze

Tabelle 2. *Das Geschlechtsverhältnis in 4 unterirdischen Populationen*

Tag des Fanges	Ernst-August-Stollen			11. Sohle A			11. Sohle B			13. Sohle		
	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %	♀♀	♂♂	♂♂ %
17. 9. 1951	1	1	—	17	22	56,41	—	—	—	—	—	—
3. 4. 1952	—	4	—	62	63	50,40	—	—	—	—	—	—
13. 6. 1952	4	27	87,10	94	131	58,22	16	23	58,98	27	36	57,14
Summe	5	32	86,49	173	216	55,01	16	23	58,98	27	36	57,14

Reihe weiterer ♂♂ und nur ganz vereinzelt ♀♀ beobachtet. Beim 3. Besuch wurde deshalb besonderer Wert darauf gelegt, einige ♀♀ dieser Population zu erbeuten. Trotzdem blieben auch dann die gefangenen ♂♂ weit in der Überzahl. Das Fangergebnis von insgesamt 5 ♀♀ : 32 ♂♂ dürfte also trotz der kleinen Individuenzahl annähernd das wahre Geschlechtsverhältnis dieser Population widerspiegeln.

Die Population des Ernst-August-Stollens steht also mit einem Geschlechtsverhältnis von ungefähr 1 ♀ : 6 ♂♂ dem angenäherten 1 : 1-Verhältnis der anderen 3 unterirdischen Populationen gegenüber. Dieses Verhalten ist völlig unerwartet, da ein so starkes Überwiegen des männlichen Geschlechtes sich infolge der dadurch stark herabgesetzten Nachkommenschaft selektiv außerordentlich ungünstig auswirken würde. Daß es trotzdem erhalten bleibt, kann nur an anderen Gegebenheiten liegen, die erst später diskutiert werden können (vgl. S. 324).

Zusammenfassend läßt sich jedenfalls sagen, daß 2 der 7 auf ihr Geschlechtsverhältnis geprüften Populationen von *Gammarus pulex* mit ihren Männchenindices (86% und 24%) in überzeugender Weise von dem gewohnten Verhältnis von 50% ♀♀ : 50% ♂♂ abweichen. Dabei überwiegen in einem Fall die ♀♀, im anderen überraschenderweise die ♂♂.

D. Das Geschlechtsverhältnis in Laboratoriumszuchten von *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus*

1. r^+-Reinzuchten (wildfarbig; Tabelle 3). Schon bei der bereits früher durchgeführten genetischen Analyse der Farbvariabilität von *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* zeigte es sich, daß das Geschlechtsverhältnis der verschiedenen Genotypen meist in ganz charakteristischer Weise von dem zu erwartenden 1 : 1-Verhältnis abweicht.

Tabelle 3. *Das Geschlechtsverhältnis in r^+-Reinzuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	344	16	16	—	0,00
2	282	11	10	1	9,09
3	192	46	37	9	19,57
4	E 23	13	10	3	23,08
5	D 46	19	14	5	26,32
6	157	81	58	23	28,40
7	D 53	27	19	8	29,63
8	D 50	47	33	14	29,79
9	E 29	22	15	7	31,82
10	730	24	14	10	41,67
	Summe	306	226	80	26,14

M = 23,93; $\sigma \pm 11{,}3$.

Tabelle 4. *Das Geschlechtsverhältnis in R^2-Reinzuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	272	26	3	23	88,46
2	D 43	39	8	31	79,49
3	427	12	3	9	75,00
4	79	47	13	34	72,34
5	151	51	16	35	68,63
6	P 8	21	8	13	61,90
7	PR 8	25	10	15	60,00
8	575	15	6	9	60,00
9	557	16	8	8	50,00
	Summe	252	75	177	70,24

M = 68,42; $\sigma \pm 11{,}1$.

In Tabelle 3 sind Reinzuchten von dem Standardallel r^+ und deren Geschlechtsverhältnisse angeführt. Es fällt sofort auf, daß das Geschlechtsverhältnis dieser homozygoten r^+r^+-Nachkommen so durchgreifend zur weiblichen Seite hin verschoben ist, daß nahezu ein Verhältnis von 3 ♀♀ : 1 ♂ erreicht wird. Dabei

ist noch zu beachten, daß die Streuung mit dem Wert ± 11,3 ♂♂% relativ gering ist[1].

2. R^2-Reinzuchten (braun; Tabelle 4). Im Gegensatz zum Vorherrschen weiblicher Nachkommen in r^+r^+-Zuchten (Tabelle 3) überwiegen hier (Tabelle 4) die ♂♂. Es ist hier ein durchschnittliches Geschlechtsverhältnis von etwa 1 ♀: 2 ♂♂ realisiert. Die Streuung des Männchenindices ist relativ gering.

3. r-Reinzuchten (rot; Tabelle 5). In diesen Zuchten ist die Nachkommenschaft ausschließlich oder fast ausschließlich männlich. Die Zucht 456 ändert das Bild in keiner Weise, weil deren geprüfte Ausnahme-♀♀ wieder arrhenogen waren. — Massenzuchten rotpigmentierter Flohkrebse verhielten sich ebenso.

Tabelle 5. *Das Geschlechtsverhältnis in r-Reinzuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	Q 2	110	—	110	100,00
2	90	24	—	24	100,00
3	612	24	—	24	100,00
4	827	22	—	22	100,00
5	691	21	—	21	100,00
6	817	21	—	21	100,00
7	704	19	—	19	100,00
8	470	17	—	17	100,00
9	877	13	—	13	100,00
10	416	12	—	12	100,00
11	D22	10	—	10	100,00
12	304 F	22	1	21	95,45
13	689	17	1	16	94,12
14	756	25	2	23	92,00
15	717	18	3	15	83,33
16	456	53	12	41	77,36
	Summe	428	19	409	95,56

M = 96,39; σ ± 6,6.

4. $r^+r^+ \times R^2R^2$[2] (Tabelle 6). Wenn auch das Zahlenmaterial dieser Kreuzungskombination relativ klein ist, so

Tabelle 6. *Das Geschlechtsverhältnis in $r^+r^+ \times R^2R^2$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	D45	10	8	2	20,00
2	535	15	12	3	20,00
3	E18	24	18	4	22,22
4	244	43	24	19	44,19
5	245	49	22	27	55,10
	Summe	141	84	55	39,01

M = 32,30; σ ± 14,6.

zeigen die Ergebnisse doch mehr oder weniger eindeutig, daß hier eine Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zur weiblichen Seite hin vorliegt. Ferner ist auffällig, daß sich die durchschnittliche Männchenrate mit 32,30% mehr dem Wert der r^+-Reinzuchten (Tabelle 3; M = 23,93%) nähert als dem der R^2-Reinzuchten (Tabelle 4; M = 68,42%).

Da in anderen Kombinationen weibchenreiche und männchenreiche Zuchten oft nebeneinander auftreten, sei hier besonders auf die relative Konstanz der Männchenindices hingewiesen. Die geringe Streuung derselben fügt sich gut in das Bild der Reinzuchten ein.

[1] Die Herkunft der Stämme und Zuchten nach Populationen wird hier nicht berücksichtigt, da sie für das Geschlechtsverhältnis innerhalb der Farbklassen im allgemeinen belanglos ist. So sind in den r^+-Reinzuchten z. B. die beiden Zuchten E 23 und E 29 aus der sonst so männchenreichen Population des Ernst-August-Stollens, während D 46, D 50 und D 53 aus der Population der 13. Sohle stammen. Der Rest setzt sich aus Tieren der 11. Sohle zusammen. — Die Spalten rechts neben der Zuchtnummer-Spalte beziehen sich — wie in allen diesbezüglichen Tabellen dieser Untersuchung — auf die Nachkommenschaften. Die Spalte „♂♂-%" gibt die prozentuale Häufigkeit der ♂♂ wieder, also Werte, die im folgenden mit „Männchenrate", „Männchenindex", „Männchenprozente" bezeichnet werden.

[2] Wie üblich, werden die ♀♀ stets vor den ♂♂ aufgeführt.

5. $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7). Das Geschlechtsverhältnis ist in den Zuchten dieser Kreuzungskombination nicht einheitlich. Bei einer durchschnittlichen Gesamt-Männchenrate von fast 50% sind in den Einzelzuchten neben ähnlichen durchschnittlichen Werten auch extrem hohe und extrem niedrige vertreten. Dieses Verhalten wird später auch in einigen weiteren Kreuzungskombinationen festgestellt werden. Es steht im völligen Gegensatz zu dem der Reinzuchten und bestimmter anderer Kreuzungskombinationen, bei denen die Streuung der Männchenindices sehr gering ist.

Tabelle 7. *Das Geschlechtsverhältnis in* $r^+r^+ \times rr$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	127	32	2	30	93,75
2	281	20	3	17	85,00
3	479	22	8	14	63,64
4	S 8	10	5	5	50,00
5	876	10	5	5	50,00
6	182	47	24	23	48,94
7	476	13	9	4	30,77
8	569	22	19	3	13,64
	Summe	176	75	101	57,39

$M = 54{,}47;\ \sigma \pm 24{,}6.$

Die reziproke Kreuzung $rr \times r^+r^+$, die im folgenden besprochen wird, verhält sich dagegen ganz anders.

6. $rr \times r^+r^+$ (Tabelle 8). Hier besteht die Nachkommenschaft fast ausschließlich aus ♂♂. Allerdings ist das vorliegende Zahlenmaterial infolge relativ seltenen Auftretens roter (*rr*) ♀♀ und homozygoter r^+-♂♂ recht dürftig. Da sich aber das Geschlechtsverhältnis der 4 geprüften Zuchten vorzüglich in den Rahmen der anderen Zuchten mit entsprechendem Verhalten ($rr \times r^+r$; Tabelle 19) einfügt, kann die durchschnittliche Männchenrate von 97,68% trotzdem als sicher gelten.

Tabelle 8. *Das Geschlechtsverhältnis in* $rr \times r^+r^+$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	609	15	—	15	100,00
2	S 6	16	—	16	100,00
3	452	62	1	61	98,39
4	644	13	1	12	92,31
	Summe	106	2	104	98,11

$M = 97{,}68;\ \sigma \pm 3{,}1.$

Die Geschlechtsverhältnisse der beiden reziproken Kreuzungen $rr \times r^+r^+$ und $r^+r^+ \times rr$ zeigen also ganz offensichtlich ein gegensätzliches Verhalten. Während in den Paarungen $r^+r^+ \times rr$ bei großer Streuung ein durchschnittliches Geschlechtsverhältnis von nahezu 1 : 1 realisiert ist, ergibt die reziproke Kreuzung $rr \times r^+r^+$ fast ausschließlich ♂♂, wie es sonst für Reinzuchten des Allels *r* charakteristisch ist (Tabelle 5).

Tabelle 9. *Das Geschlechtsverhältnis in* $R^2R^2 \times rr$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	550	43	—	43	100,00
2	328	23	—	23	100,00
3	455	16	—	16	100,00
4	249	10	—	10	100,00
5	469	56	1	55	98,21
6	10	11	1	10	90,91
7	296	95	28	67	70,53
8	374	42	13	29	69,05
9	463	20	10	10	50,00
10	632	35	32	3	8,57
	Summe	351	85	266	75,78
		$M = 78{,}73$			
ohne Zucht 632					
	Summe	316	53	263	83,24
		$M = 86{,}52;\ \sigma \pm 17{,}6.$			

7. $R^2R^2 \times rr$ (Tabelle 9). Abgesehen von der Ausnahmezucht 632 sind die Einzelergebnisse dieser Kreuzung ziemlich einheitlich. Die durchschnittliche Männchenrate liegt zwischen derjenigen von Reinzuchten der Allele R^2 und *r* (Tabelle 4 und 5) bei etwa 80%. Andererseits fordert aber diese Kombination

gerade wegen des Auftretens der überaus weibchenreichen Zucht 632 zu einem Vergleich mit der Kreuzung $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7) heraus, und dies um so mehr, als in beiden Fällen *rr*-Tiere als ♂♂ verwendet wurden.

8. $r^+r^+ \times r^+$ und $r^+ \times r^+r^+$ [1] (Tabelle 10). Die durchschnittliche Männchenrate ergibt ein sehr gutes 1 : 1-Geschlechtsverhältnis. Die Indices der einzelnen Zuchten streuen jedoch von extrem niedrigen Werten, die außer in r^+-Reinzuchten selten erreicht werden, bis zu Prozentsätzen, wie sie für R^2-Reinzuchten (Tabelle 4) typisch sind.

Trotz dieser relativ uneinheitlichen Werte ist für alle diese Kombinationen dennoch charakteristisch, daß ihnen hohe und extrem hohe Männchenindices fehlen.

9. $R^2R^2 \times R^2$ *und* $R^2 \times R^2R^2$ [2] (Tabelle 11). Die durchschnittliche Männchenrate ergibt in diesen Nachkommenschaften einen Wert von 75,89%, der sich demjenigen der R^2-Reinzuchten zwanglos anschließt. Allerdings umfaßt diese Aufstellung auch 5 Zuchten mit rein männlicher Nachkommenschaft, wie sie für R^2-Reinzuchten durchaus nicht charakteristisch ist, sondern vielmehr für solche

Tabelle 10. *Das Geschlechtsverhältnis in den Zuchten* $r^+r^+ \times r^+$ *und* $r^+ \times r^+r^+$

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	38	60	51	9	15,00
2	728	11	9	2	18,18
3	262	55	36	19	34,55
4	21	65	42	23	35,38
5	S26	57	33	24	42,11
6	80	12	6	6	50,00
7	227	29	14	15	51,72
8	398	13	6	7	53,85
9	981	15	6	9	60,00
10	D42	23	9	14	60,87
11	421	42	16	26	61,90
12	D4	11	4	7	63,64
13	417	37	13	24	64,86
14	D18	18	5	13	72,22
	Summe	448	250	198	44,20

$M = 48{,}88$; $\sigma \pm 16{,}93$.

Tabelle 11. *Das Geschlechtsverhältnis in den Zuchten* $R^2R^2 \times R^2$ *und* $R^2 \times R^2R^2$

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	E37	22	—	22	100,00
2	EA4	21	—	21	100,00
3	528	16	—	16	100,00
4	709	13	—	13	100,00
5	57	10	—	10	100,00
6	877	44	1	43	97,73
7	109	10	1	9	90,00
8	72	40	5	35	87,50
9	22R	31	4	27	87,10
10	23P	26	4	22	84,62
11	45	12	2	10	83,33
12	E17	10	2	8	80,00
13	S42	114	25	89	78,07
14	538	20	5	15	75,00
15	EA5	12	3	9	75,00
16	976	18	5	13	72,22
17	677	30	10	20	66,67
18	455	24	8	16	66,67
19	Q1	23	8	15	65,22
20	22P	48	17	31	64,58
21	EA3	14	5	9	64,29
22	641	24	9	15	62,50
23	478	36	15	21	58,33
24	464	12	5	7	58,33
25	131	19	8	11	57,89
26	EA6	14	7	7	50,00
27	156	14	7	7	50,00
28	10	10	5	5	50,00
	Summe	677	161	516	76,22

$M = 75{,}89$; $\sigma \pm 16{,}3$.

[1] Da in diesen Paarungen oft nicht entschieden werden kann, ob das Vatertier oder das Muttertier für das Allel r^+ reinerbig war, sind in Tabelle 10 die beiden reziproken Kombinationen $r^+r^+ \times r^+r$ und $r^+r \times r^+r^+$ gemeinsam aufgeführt worden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dabei auch einzelne r^+-Reinzuchten mit einbezogen wurden.

[2] Tabelle 11 umfaßt folgende Paarungen: $R^2R^2 \times R^2r$, $R^2r \times R^2R^2$, $R^2R^2 \times R^2r^+$, $R^2r^+ \times R^2R^2$ und vielleicht $R^2R^2 \times R^2R^2$. Diese Kombinationen können im Einzelfall nicht mit Sicherheit auseinandergehalten werden. Wenn heterozygote R^2-Individuen auch gelegentlich phänotypisch unterscheidbar sind, so wurde auch hier wie bei heterozygoten r^+-Tieren auf eine nähere Gliederung verzichtet.

des Allels r. Dies ist auch der Grund für die relativ große Streuung der Männchenindices gegenüber den R^2-Reinzuchten.

Vergleicht man dagegen die Männchenraten dieser Nachkommenschaften mit denen der Kombinationen $r^+r^+ \times r^+$ und $r^+ \times r^+r^+$, so zeigt sich, daß auch hier Männchenprozente von 50—70 vorkommen. Die höheren Werte (über 70 ♂♂-%) sind aber nur auf die Kombinationen $R^2R^2 \times R^2$ und $R^2 \times R^2R^2$ und die niederen (unter 50 ♂♂-%) auf $r^+r^+ \times r^+$ und $r^+ \times r^+r^+$ beschränkt.

Tabelle 12. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $r^+r^+ \times R^2r^+$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+r^+	R^2	% R^2
1	537	14	12	2	14,29	8	6	42,86
2	502	48	40	8	16,67	24	24	50,00
3	367	56	40	16	28,57	30	26	46,43
4	242	15	10	5	33,33	7	8	53,33
5	442	51	33	18	35,29	25	26	50,98
6	E21	13	7	6	46,15	5	8	61,54
7	887	24	12	12	50,00	11	13	54,17
8	195	20	10	10	50,00	9	11	55,00
9	420	25	12	13	52,00	?	?	—
10	437	28	11	17	60,71	11	17	60,71
11	568	16	6	10	62,50	7	9	56,25
	Summe	310	193	117	37,74	137	148	51,93
				M = 40,86		gef. 137	:148	
				$\sigma \pm$ 15,7		erw. 142,5	:142,5	
						−5,5	+ 5,5	
						3m = ±25,3		

GV. r^+r^+
95 ♀♀ : 32 ♂♂ = 25,20 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀
gef. 95 r^+ : 74 R^2
erw. 84,5 r^+ : 84,5 R^2
+10,5 −10,5
3 m = ±19,5

GV. R^2r^+
74 ♀♀ : 56 ♂♂ = 43,08 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂
gef. 32 r^+ : 56 R^2
erw. 44 r^+ : 44 R^2
−12 +12
3m = ± 14,1

10. $r^+r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 12). Die Männchenindices dieser Kombination entsprechen mit ihren höheren Werten mehr denen der R^2-Reinzuchten, während sie mit ihren niederen denen der r^+-Reinzuchten nahekommen. Demzufolge nimmt auch die durchschnittliche Männchenrate mit etwa 40% eine Stellung ein, die zwischen derjenigen von r^+- (M = 23,93%; Tabelle 3) und R^2-Reinzuchten (M = 68,42%; Tabelle 4) vermittelt. — Auffällig ist außerdem die gute Übereinstimmung der Männchenindices aus den Kombinationen $r^+r^+ \times R^2r^+$ mit denen aus $r^+r^+ \times r^+$- bzw. $r^+ \times r^+r^+$-Paarungen (Tabelle 10). In beiden Fällen sind bei gleicher Streuung Werte von etwa 15—65 ♂♂-% vorhanden.

Die Farbklassen zeigen eine ungestörte Mendelspaltung, so daß das zu erwartende Verhältnis von 50% r^+r^+ zu 50% R^2r^+ recht gut realisiert ist. Auch in den Einzelzuchten sind Abweichungen davon recht unbedeutend.

Ein besonderes Interesse beanspruchen nun hier wie in allen anderen spaltenden Kreuzungsnachkommenschaften die Geschlechtsverhältnisse der verschiedenen Farbklassen einer Kombination, sowie umgekehrt die Aufspaltung der Farbklassen bei ♀♀ und ♂♂. Dabei zeigt sich nun zunächst, daß das Geschlechts-

verhältnis der r^+r^+-Tiere aus der vorliegenden Kreuzungskombination völlig mit dem der r^+-Reinzuchten übereinstimmt (Tabelle 3). Die ♀♀ überwiegen also auch hier um rund das Dreifache. Das Geschlechtsverhältnis dieser r^+r^+-Tiere erscheint sogar auch dann noch zur weiblichen Seite hin verschoben, wenn die Durchschnittswerte aus dieser Kombination (62,26% ♀♀: 37,74% ♂♂) zugrunde gelegt werden. Diese Differenz von etwa 12% ist recht auffallend; es wird später noch darauf zurückzukommen sein.

Auch in der R^2-Klasse überwiegen die ♀♀. Dabei ergibt sich weder eine Übereinstimmung mit R^2- noch mit r^+-Reinzuchten. Der Betrag von 43,08 ♂♂-% nimmt vielmehr entsprechend der durchgehenden Heterozygotie dieser Tiere eine vermittelnde Stellung ein, die etwa dem Gesamt-Geschlechtsverhältnis dieser Kombination entspricht. Die Differenz von etwa ± 5%, die sich bei einem solchen Vergleich ergibt, ist zwar gegenüber der r^+-Farbklasse in genau entgegengesetzter Richtung verschoben, jedoch ist sie so unbedeutend, daß man ihr keinen besonderen Wert zumessen kann.

Tabelle 13. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $R^2r^+ \times r^+r^+$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+r^+	R^2	R^2 %
1	724	16	11	5	31,25	9	7	43,75
2	522	12	8	4	33,33	6	6	50,00
3	25	49	15	34	69,39	22	27	55,10
4	389	25	5	20	80,00	13	12	48,00
Summe		102	39	63	61,76	50	52	50,98
				M = 53,46				
				σ ± 21,5				

Tabelle 14. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $r^+r^+ \times R^2r$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+r	R^2	R^2 %
1	19	75	48	27	36,00	?	?	—
2	400	28	13	15	53,57	16	12	42,86
3	360	18	3	15	83,33	9	9	50,00
Summe		121	64	57	47,11	25	21	45,65
				M = 57,63				
				σ ± 19,5				

Auch wenn man in umgekehrter Weise die Farbklassen der Geschlechter prüft, lassen sich entsprechende Abweichungen erkennen: Innerhalb eines Geschlechtes stimmen nämlich die Mendelverhältnisse nicht mit dem erwarteten Wert von 50% r^+r^+ : 50% R^2r^+ überein, der ja unter der Gesamtheit der Tiere recht gut realisiert ist. Während diese Differenz bei den ♀♀ infolge eines nur geringen Überwiegens der r^+r^+-Tiere nicht sehr auffallend ist, weicht das Mendelverhältnis der ♂♂ im umgekehrten Sinne um einen recht bedeutenden Betrag ab, der die Grenze des 3fachen mittleren Fehlers fast schon erreicht.

11. $R^2r^+ \times r^+r^+$ (Tabelle 13). Hier können nur 4 Zuchten aufgeführt werden. Eine nähere Analyse ist deshalb nicht möglich. Immerhin ist aber aus den Männchenindices zu ersehen, daß hier ähnliche Verhältnisse vorliegen dürften, wie sie bei der vorhergehenden reziproken Kombination (Tabelle 12) vorgefunden wurden. Es sind in beiden Fällen niedrige und auch höhere Männchenprozente nebeneinander vorhanden. Das Mendelverhältnis der Farbklassen ist dabei ungestört und entspricht fast dem idealen Wert von 50% r^+r^+ : 50% R^2r^+.

12. $r^+r^+ \times R^2r$ (Tabelle 14). Auch diese Kreuzungskombination kann mangels einer ausreichenden Anzahl von Zuchten keine näheren Aufschlüsse über die Geschlechtsbestimmung geben. Die Ergebnisse stimmen aber im ganzen gut mit denen der beiden vorhergehenden Kreuzungsgruppen überein. Es liegt daher kein Grund vor, ein von den Kombinationen $R^2r^+ \times r^+r^+$ (Tabelle 13) und $r^+r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 12) abweichendes Verhalten der Männchenraten und der Mendelverhältnisse zu vermuten.

13. $r^+r \times R^2r^+$ *und* $R^2r^+ \times r^+r$ [1] (Tabelle 15). Die Nachkommen dieser Kombination ergeben Männchenraten von hohen bis mittleren Werten. Sie gleichen darin fast vollkommen denen der R^2-Reinzuchten. Diese Übereinstimmung ist aber wahrscheinlich zufällig, da kein ursächlicher Zusammenhang gefunden wurde.

Das gefundene Mendelverhältnis der Farbklassen entspricht dem erwarteten 1 : 1-Wert. Auch das Geschlechtsverhältnis der Farbklassen weicht nicht vom Gesamt-Geschlechtsverhältnis ab. Entgegen den bisherigen Beobachtungen an anderen Kombinationen weichen hier also weder die Geschlechtsverhältnisse innerhalb der Farbklassen noch die Mendelverhältnisse innerhalb der Geschlechter von den Durchschnittswerten ab.

Tabelle 15. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in den Zuchten* $r^+r \times R^2r^+$ *und* $R^2r^+ \times r^+r$

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+	R^2	R^2 %
1	551	52	4	48	92,31	22	30	57,69
2	E41	14	1	13	92,86	9	5	35,14
3	408	20	4	16	80,00	9	11	52,00
4	15	47	10	37	78,72	23	24	52,06
5	D14	11	3	8	72,73	6	5	45,45
6	17	16	8	8	50,00	7	9	56,25
7	424	12	6	6	50,00	7	5	41,67
8	621	12	7	5	41,67	6	6	50,00
9	546	32	26	6	18,75	11	21	65,63
	Summe	216	69	147	68,06	100	116	53,70
	ohne Zucht 546							
	Summe	184	43	141	76,63	89	95	51,63
				M = 69,79		gef. 89 : 95		
				$\sigma \pm$ 18,7		erw. 92 : 92		
						—3	+3	
						3m = ± 20,3		

GV. r^+

18 ♀♀ : 66 ♂♂ = 78,57 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀

gef. 18 r^+ : 17 R^2

erw. 17,5 r^+ : 17,5 R^2

+0,5 −0,5

3m = ± 8,9

GV. R^2

17 ♀♀ : 67 ♂♂ = 79,76 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂

gef. 66 r^+ : 67 R^2

erw. 66,5 r^+ : 66,5 R^2

−0,5 +0,5

3m = ± 17,3

Vergleicht man noch die Geschlechtsverhältnisse der einzelnen Farbklassen mit denen der Kombination $r^+r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 12), dann zeigt sich, daß trotz des gleichartigen Mendelverhältnisses keine Übereinstimmung herrscht.

[1] Die Zucht 546 mit 18,75 ♂♂-% dürfte einen Ausnahmewert darstellen, der durch bisher nicht näher kontrollierbare Faktoren zustande kommt. Da zudem in dieser Zucht auch noch die 1 : 1-Aufspaltung der Farbklassen gestört ist, liegt es nahe, in diesem besonderen Falle an eine sekundäre Verschiebung (etwa unterschiedliche Sterblichkeit oder dgl.) des Geschlechtsverhältnisses zu denken. Aus diesem Grunde ist in Tabelle 15 lediglich eine Berechnung ohne die Ausnahmezucht 546 angestellt, die jedoch keine wesentlichen Änderungen des Gesamtwertes ergibt.

14. $R^2r^+ \times rr$ (Tabelle 16). Die Männchenindices schließen sich in dieser Gruppe ganz zwanglos an die der vorhergehenden Kombinationen (Tabelle 15) an. Niedrige Männchenprozente fehlen hier offenbar vollkommen, obwohl nach den Erfahrungen mit den Kombinationen $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7) und $R^2R^2 \times rr$ (Tabelle 9) eigentlich mit dem Auftreten weibchenreicher Zuchten hätte gerechnet werden können.

Die Aufspaltung in Farbklassen ist gleichfalls ungestört. Auch sonst bringt diese Kreuzungskombination keine Besonderheiten, die geeignet wären, nähere Aufschlüsse über die Geschlechtsvererbung zu geben.

Tabelle 16. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in* $R^2r^+ \times rr$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+	R^2	R^2 %
1	149	30	1	29	96,67	?	?	—
2	98	37	2	35	94,60	15	22	59,46
3	146	18	2	16	88,89	8	10	55,56
4	88	13	3	10	76,92	7	6	46,15
5	435	50	14	36	72,00	23	27	54,00
6	518	10	3	7	70,00	6	4	40,00
7	148	24	13	11	45,83	14	10	41,67
	Summe	182	38	144	79,12	73	79	51,97
				M = 77,84		gef. 73 : 79		
				σ ± 16,4		erw. 76 : 76		
						−3 +3		
						3m = ± 18,5		

GV. r^+r

14 ♀♀ : 30 ♂♂ = 68,18 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀

gef. $14r^+ : 8R^2$

erw. $11r^+ : 11R^2$

+3 −3

3m = ± 7,1

GV. R^2r

8 ♀♀ : 39 ♂♂ = 82,98 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂

gef. 30 r^+ : 39 R^2

erw. $34{,}5r^+ : 34{,}5R^2$

−4,5 +4,5

3m = ± 12,5

15. $r^+r \times rr$ (Tabelle 17). Die Kombination $r^+r \times rr$ enthält außer Zuchten mit rein männlicher Nachkommenschaft so gut wie alle auch sonst vorkommenden Männchenindices. Mit den Werten der Zuchten 477, 219, 684 und 304 liegt sie sogar noch unter der durchschnittlichen Männchenrate von r^+-Reinzuchten (Tabelle 3). Daß diese z. T. sogar extrem weibchenreichen Zuchten nicht zufallsbedingt sind, ergibt sich allein schon daraus, daß gerade mit der Zucht 304 die größte bisher erzielte Anzahl von Nachkommen erreicht wird. Abgesehen von der r^+-Reinzucht 344 mit 16 ausschließlich weiblichen Nachkommen, der r^+-Reinzucht 282 mit 10 ♀♀ : 1 ♂ (Tabelle 3) und der $R^2R^2 \times rr$-Zucht 632 mit 32 ♀♀ : 3 ♂♂ (Tabelle 9), erreicht also die Zucht 304 (Tabelle 17) mit 115 ♀♀ : 13 ♂♂ die niedrigsten und wegen der großen Nachkommenzahl zugleich auch die am besten gesicherten Männchenprozente.

Dieses gemeinsame Auftreten von extrem weibchenreichen und männchenreichen Zuchten in ein und derselben Kreuzungskombination steht ganz mit den

Erfahrungen in Einklang, die schon zuvor an den Kreuzungskombinationen $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7) und $R^2R^2 \times rr$ (Tabelle 9) gewonnen wurden.

Die Aufspaltung in Farbklassen verläuft auch hier völlig ungestört. Ebenso weichen die Geschlechtsverhältnisse der Farbklassen und die Farbklassen der Geschlechter nicht wesentlich von den Verhältnissen bei der Gesamtheit der Tiere ab.

Tabelle 17. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $r^+r \times rr$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	rr	r^+r	r^+r %
1	552	39	3	36	92,31	19	20	51,28
2	614	13	3	10	76,92	4	9	69,23
3	480	53	13	40	75,47	21	32	60,38
4	703	12	3	9	75,00	4	8	66,67
5	97	18	5	13	72,22	8	10	55,56
6	610	45	13	32	71,11	23	22	48,89
7	280	31	10	21	67,74	17	14	45,16
8	438	75	25	50	66,67	32	43	57,33
9	122	20	7	13	65,00	11	9	45,00
10	S30	68	24	44	64,71	25	43	63,24
11	669	12	5	7	58,33	7	5	41,67
12	404	37	16	21	56,76	17	20	54,05
13	977	16	7	9	56,25	6	10	62,50
14	202	49	22	27	55,10	26	23	46,94
15	822	11	5	6	54,55	5	6	54,55
16	685	18	9	9	50,00	10	8	44,44
17	235	15	8	7	46,47	7	8	53,33
18	330	19	12	7	36,84	6	13	68,42
19	726	13	9	4	30,77	9	4	30,77
20	477	29	23	6	20,69	15	14	48,28
21	219	14	12	2	14,29	8	6	42,86
22	684	19	17	2	10,53	12	7	36,84
23	304	128	115	13	10,16	72	56	43,75
	Summe	754	366	388	51,46	364	390	51,72
				M = 53,38		gef. 364 : 390		
				$\sigma \pm$ 22,4		erw. 377 : 377		
						+13 −13		
						3m = ± 41,2		

GV. rr
187 ♀♀ : 177 ♂♂ = 48,63 ♂♂-%
Farbklassen der ♀♀
gef. 187 rr : 179 r^+r
erw. 183 rr : 183 r^+r
+4 −4
3m = ± 28,7

GV. r^+r
179 ♀♀ : 211 ♂♂ = 54,10 ♂♂-%
Farbklassen der ♂♂
gef. 177 rr : 211 r^+r
erw. 194 rr : 194 r^+r
−17 +17
3m = ± 29,6

Die Männchenindices bei den Einzelzuchten innerhalb der Farbklasse rr zeigen allerdings ein sehr merkwürdiges Verhalten, wenn sie mit den entsprechenden Geschlechtsverhältnissen in anderen Kreuzungskombinationen oder denen von r-Reinzuchten verglichen werden. Im Gegensatz zu allen diesen Werten kommt nämlich hier unter den rr-Tieren nicht selten ein Überwiegen von ♀♀ vor, also ein Verhalten, das nach den bisherigen Erfahrungen ganz unerwartet

ist, und insgesamt besitzt die rote Farbklasse (*rr*) in dieser Kombination eine relativ so niedrige Männchenrate (48,63%), wie sie in keiner anderen Paarungsgruppe erreicht wird.

16. $r^+r \times R^2R^2$ (Tabelle 18). Die Kombination $r^+r \times R^2R^2$ mag gewisse Ähnlichkeiten mit den $r^+r \times rr$-Paarungen aufweisen. Das vorliegende Zahlenmaterial ist indessen viel zu gering, um diese Vermutung bestätigen zu können.

Tabelle 18. *Das Geschlechtsverhältnis in* $r^+r \times R^2R^2$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %
1	271	26	3	23	88,46
2	468	57	12	45	78,95
3	458	63	54	9	14,29
Summe		146	69	77	52,74

M = 60,57.

17. $rr \times r^+r$ (Tabelle 19). Ein völlig anderes Bild als die soeben besprochene Kombination $r^+r \times rr$ ergibt nun die reziproke Kreuzung $rr \times r^+r$. Hier wird ausnahmslos die gleiche extrem hohe durchschnittliche Männchenrate (95,83%) erreicht, wie sie für *rr*-Reinzuchten (Tabelle 5) so charakteristisch ist, und wie sie auch schon in der $rr \times r^+r^+$-Kreuzung (Tabelle 8) nachgewiesen wurde. Als besonders auffallend muß dabei noch herausgestellt werden, daß unter den 18 Ausnahmeweibchen, die in dieser Gruppe auftreten, lediglich 2 der roten Farbklasse angehören. Demgegenüber scheint unter den ♂♂ die rote Farbklasse zu überwiegen; dieses Überwiegen hat seine Ursache nicht nur in der Tatsache, daß schon das Mendelverhältnis

Tabelle 19. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in* $rr \times r^+r$*-Zuchten*

Nr.	Zucht	GV. der Nachkommen: Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	Farbklassen: *rr*	r^+r	r^+r %
1	749	22	—	22	100,00	12	10	45,45
2	274	19	—	19	100,00	11	8	42,11
3	883	17	—	17	100,00	8	9	52,94
4	832	15	—	15	100,00	12	3	20,00
5	279	14	—	14	100,00	9	5	35,71
6	607	12	—	12	100,00	5	7	58,33
7	853	10	—	10	100,00	6	4	40,00
8	S15	37	1	36	97,30	19	18	48,65
9	779	39	2	37	94,87	20	19	48,72
10	275	31	2	29	93,50	14	17	54,84
11	254	31	3	28	90,32	19	12	38,71
12	412	59	6	53	89,83	31	28	47,46
13	635	20	4	16	80,00	10	10	50,00
	Summe	326	18	308	94,48	176	150	46,01
				M = 95,83		gef. 176 : 150		
				σ ± 5,81		erw. 163 : 163		
						+13 −13		
						3 m = ±27,1		

GV. *rr*

2 ♀♀ : 174 ♂♂ = 98,87 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀

gef. 2*rr* : 16r^+r

erw. 9*rr* : 9r^+r

−7 +7

3 m = ±6,4

GV. r^+r

16 ♀♀ : 134 ♂♂ = 89,33 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂

gef. 174*rr* : 134r^+r

erw. 154*rr* : 154r^+r

+20 −20

3 m = ±26,3

über noch herausgestellt werden, daß unter den 18 Ausnahmeweibchen, die in dieser Gruppe auftreten, lediglich 2 der roten Farbklasse angehören. Demgegenüber scheint unter den ♂♂ die rote Farbklasse zu überwiegen; dieses Überwiegen hat seine Ursache nicht nur in der Tatsache, daß schon das Mendelverhältnis

der Gesamt-Nachkommenschaft im gleichen Sinne, wenn auch unbedeutend, verschoben ist.

18. $R^2r \times rr$ *und* $rr \times R^2r$ (Tabelle 20). Diese beiden reziproken Kreuzungen werden gemeinsam aufgeführt, weil sie mit Ausnahme der Zucht 525 rein männliche oder doch vorwiegend männliche Nachkommenschaften aufweisen. Darin gleichen sie der zuvor aufgeführten $rr \times r^+r$-Kombination (Tabelle 19), sowie den

Tabelle 20. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in den Zuchten* $R^2r \times rr$ *und* $rr \times R^2r$

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	*rr*	R^2	R^2 %
1	843	28	—	28	100,00	15	13	46,43
2	415	19	—	19	100,00	8	11	58,00
3	524	19	—	19	100,00	8	11	58,00
4	462	10	—	10	100,00	6	4	40,00
5	313	29	1	28	96,55	16	13	44,83
6	505	46	2	44	95,65	25	21	45,67
7	625	29	3	26	89,66	12	17	58,62
8	S16	29	4	25	86,21	15	14	48,27
9	371	39	6	33	84,62	17	22	56,41
10	137	24	4	20	83,33	12	12	50,00
11	881	12	2	10	83,33	8	4	33,33
12	831	12	3	9	75,00	5	7	58,33
13	525	70	45	25	35,71	25	45	64,29
	Summe	366	70	296	80,87	172	194	53,01
ohne Zucht 525	Summe	296	25	271	91,55	147	149	50,34

M = 91,20
σ ± 8,2

gef. 147 : 149
erw. 148 : 148
−1 +1
3 m = ± 25,8

GV. *rr*
7 ♀♀ : 140 ♂♂ = 95,24 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀
gef. 7 *rr* : 18 R^2
erw. 12,5 *rr* : 12,5 R^2
−5,5 +5,5
3 m = ± 7,5

GV. R^2r
18 ♀♀ : 131 ♂♂ = 87,92 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂
gef. 140 *rr* : 131 R^2
erw. 135,5 *rr* : 135,5 R^2
+4,5 −4,5
3 m = ± 24,7

$rr \times r^+r^+$- und $rr \times rr$-Paarungen (Tabelle 8 und 5). Der abweichende Männchenindex der Zucht 525 ist dabei sicher ein Ausnahmewert, für den dasselbe wie für den der Zucht 546 (Tabelle 15) gilt.

Das Mendelverhältnis der beiden Farbklassen ist fast ideal. — Sehr aufschlußreich sind nun der Geschlechtsverhältnisse der Farbklassen und umgekehrt das Verhältnis der Farbklassen innerhalb der Geschlechter, wenn mit der vorhergehenden Kombination $rr \times r^+r$ (Tabelle 19) ein Vergleich angestellt wird, wobei dann der Konstitution R^2r die von r^+r entspräche. In beiden Fällen sind nämlich die Verhältnisse gleichsinnig verschoben. Am deutlichsten ist dies am

Verhältnis der Farbklassen bei den ♀♀ zu beobachten: rote (*rr*) ♀♀ sind hier eine Seltenheit.

Tabelle 21. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $R^2r \times R^2r$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	*rr*	R^2	R_2 %
1	443	21	—	21	100,00	8	13	61,19
2	547	19	—	19	100,00	2	17	89,47
3	92	18	—	18	100,00	4	14	77,78
4	409	18	—	18	100,00	2	16	88,89
5	820	17	—	17	100,00	5	12	70,59
6	E11	16	—	16	100,00	1	15	93,75
7	E134	15	—	15	100,00	2	13	86,67
8	708	15	—	15	100,00	5	10	66,67
9	865	15	—	15	100,00	3	12	80,00
10	714	15	—	15	100,00	4	11	73,33
11	110	10	—	10	100,00	2	8	80,00
12	388	56	1	55	98,21	20	36	64,29
13	D44	41	2	39	95,12	8	33	80,49
14	D15	34	2	32	94,12	7	27	79,41
15	211	16	1	15	93,75	4	12	75,00
16	E140	13	1	12	92,31	4	9	69,23
17	795	13	1	12	92,31	2	11	84,61
18	158	38	3	35	92,11	10	28	73,68
19	665	10	1	9	90,00	3	7	70,00
20	S30	59	8	51	86,44	18	41	69,49
21	979	19	3	16	84,21	6	13	68,42
22	549	25	4	21	84,00	5	20	80,00
23	494	22	4	18	81,82	4	18	81,82
24	48	16	3	13	81,25	3	13	81,25
25	487	22	5	17	77,27	4	18	81,82
26	753	10	3	7	70,00	4	6	60,00
	Summe	573	42	531	92,67	140	433	75,57

M = 92,80
$\sigma \pm 8,7$

gef. 140 : 433
erw. 143,25 : 429,75
−3,25 + 3,25
3 m = ± 31,1

GV. *rr*
8 ♀♀ : 132 ♂♂ = 92,15 ♂♂-%
Farbklassen der ♀♀
gef. 8 *rr* : 34 R^2
erw. 10,5 *rr* : 31,5 R^2
−2,5 +2,5
3 m = ± 8,4

GV. R^2
34 ♀♀ : 399 ♂♂ = 92,15 ♂♂-%
Farbklassen der ♂♂
gef. 132 *rr* : 399 R^2
erw. 132,75 *rr* : 398,25 R^2
−0,75 +0,75
3 m = ± 29,9

19. $R^2r \times R^2r$ (Tabelle 21). Abgesehen davon, daß die Farbklassen in dieser Kombination erwartungsgemäß im Verhältnis 3 : 1 spalten, herrscht sonst in allen Einzelheiten volle Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den Paarungen $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$ (Tabelle 20), $rr \times r^+r$ (Tabelle 19) — unter der Voraussetzung, daß sich hier die beiden Allele R^2 und r^+ gleichsinnig verhalten. Somit entsprechen auch die ausschließlich oder doch ganz vorwiegend männlichen Zuchten völlig dem Verhalten der *r*-Reinzuchten und dem der Kombination $rr \times r^+r^+$ (Tabelle 8). Es sei nur noch einmal auf das Verhältnis der Farbklassen bei den

♀♀ hingewiesen: Die Differenz ist hier sehr gering gegenüber derjenigen von $rr \times r^+r$- (Tabelle 19), sowie der in den $R^2r \times rr$- und $rr \times R^2r$-Zuchten (Tabelle 20). Rote ♀♀ treten allerdings auch hier selten auf.

Tabelle 22. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $r^+r \times r^+r$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	rr	r^+	r^+ %
1	418	19	15	4	21,05	6	13	68,42
2	519	12	9	3	25,00	2	10	83,33
3	495	13	9	4	30,77	3	10	76,92
4	348	38	24	14	36,84	5	33	86,84
5	651	15	9	6	40,00	4	11	73,33
6	354	17	10	7	41,18	6	11	64,71
7	978	12	7	5	41,67	3	9	75,00
8	35	11	6	5	45,45	3	8	72,73
9	563	27	14	13	48,15	6	21	77,78
10	796	12	6	6	50,00	5	7	58,33
11	578	10	5	5	50,00	3	7	70,00
12	150	26	8	18	69,23	6	20	76,92
13	S30	93	32	61	65,59	22	71	76,34
14	627	10	3	7	70,00	2	8	80,00
15	654	15	4	11	73,33	5	10	66,67
16	407	58	12	46	79,31	20	38	65,52
17	403	34	7	27	79,41	5	29	85,29
18	451	50	10	40	80,00	16	34	68,00
19	486	18	2	16	88,89	6	12	66,67
	Summe	490	192	298	60,82	128	362	73,30
				M = 54,53		gef. 128 : 362		
				$\sigma \pm$ 19,9		erw. 122,5 : 367,5		
						+5,5 −5,5		
						3m = ±28,8		

GV. rr

30 ♀♀ : 98 ♂♂ = 76,55 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀

gef. 30rr : 162r^+

erw. 48rr : 144r^+

−18 +18

3m = ±18

GV. r^+

162 ♀♀ : 200 ♂♂ = 55,25 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂

gef. 98 rr : 200 r^+

erw. 74,5rr : 223,5r^+

+23,5 −23,5

3m = ±22,4

20. $r^+r \times r^+r$ (Tabelle 22). Hier sind wie bei der Kombination $r^+r \times rr$ (Tabelle 17) — abgesehen von Zuchten mit rein männlicher Nachkommenschaft — alle auch sonst vorkommenden Männchenindices vertreten. Dieses Verhalten steht im völligen Gegensatz zu dem der Kreuzungen $rr \times r^+r$ (Tabelle 19) $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$ (Tabelle 20) sowie $R^2r \times R^2r$ (Tabelle 21), die fast nur männliche Nachkommen haben. — Ein Vergleich zwischen den Geschlechtsverhältnissen der Farbklassen bzw. dem Mendelverhältnis der Farbklassen bei den Geschlechtern der vorliegenden Kombination mit denen der Kreuzungen $r^+r \times rr$ (Tabelle 17), $rr \times r^+r$ (Tabelle 19), $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$ (Tabelle 20), $R^2r \times R^2r$ (Tabelle 21) fällt nun anders aus. Dabei zeigt sich zunächst, daß die Abweichungen von der für die Gesamtzahl stets ungestörten Mendelspaltung sowie vom Gesamt-Geschlechtsverhältnis bei den $r^+r \times r^+r$-Zuchten außerordentlich hoch sind, während sie demgegenüber in der Kombination $r^+r \times rr$ (Tabelle 17) nicht immer stark in Erscheinung treten. Außerdem ergibt sich, daß die Abweichungen bei den

$r^+r \times r^+r$-Zuchten mit denen der Kombinationen $rr \times r^+r$, $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$, $R^2r \times R^2r$ vollkommen gleichsinnig verlaufen. Diese Abweichungen in der Farbaufspaltung sind für $r^+r \times r^+r$ und z. T. auch für die anderen Kombinationen fehlerkritisch ausreichend (3 m) abgesichert.

Während also hinsichtlich der Gesamt-Geschlechtsverhältnisse und der Streuung völlige Übereinstimmung zwischen den beiden Kombinationen $r^+r \times r^+r$ und $r^+r \times rr$ herrscht, besteht eine solche zwischen der $r^+r \times r^+r$-Kombination und den Kreuzungen $rr \times r^+r$, $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$ sowie $R^2r \times R^2r$ nicht. Es steht in dieser Hinsicht also die eine Kombinationsgruppe ($r^+r \times r^+r$ und $r^+r \times rr$) einer anderen Gruppe von Paarungen ($rr \times r^+r$, $R^2r \times rr$ bzw. $rr \times R^2r$ und

Tabelle 23. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in $R^2r^+ \times R^2r^+$-Zuchten*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	r^+r^+	R^2	R^2 %
1	30	18	1	17	94,44	4	14	77,75
2	E25	32	5	27	84,38	6	26	81,25
3	36	19	3	16	84,21	4	15	78,95
4	120	36	6	30	83,33	6	30	83,33
5	589	15	3	12	80,00	2	13	86,67
6	980	15	3	12	80,00	4	11	73,33
7	S18	44	14	30	68,18	10	34	77,27
8	46	25	8	17	68,00	7	18	73,68
9	558	37	13	24	64,86	9	28	75,68
10	501	10	4	6	60,00	3	7	70,00
11	431	55	23	32	58,18	12	43	78,18
12	139	20	9	11	55,00	4	16	80,00
13	325	18	9	9	50,00	6	12	66,67
	Summe	344	101	243	72,29	77	267	77,62
				M = 71,58 σ ± 13,4		gef. 77 : 267 erw. 86 : 258 −9 +9 3m = ±24,1		

GV. r^+r^+

40 ♀♀ : 37 ♂♂ = 48,05 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀

gef. 40 r^+r^+ : 61 R_2

erw. 25,25 r^+r^+ : 75,75 R^2

+14,75 −14,75

3m = ±13,1

GV. R^2

61 ♀♀ : 206 ♂♂ = 76,78 ♂♂-%

Farbklassen der ♂♂

gef. 37 r^+r^+ : 206 R^2

erw. 60,75 r^+r^+ : 182,25 R^2

−23,75 +23,75

3m = ±20,3

$R^2r \times R^2r$) gegenüber. Werden aber für einen zweiten Vergleich die Abweichungen der Geschlechtsverhältnisse in den Farbklassen vom Gesamt-Geschlechtsverhältnis und die Abweichungen der Farbaufspaltungen innerhalb der Geschlechter ins Auge gefaßt, dann verhält sich die Kombination $r^+r \times r^+r$ genau so wie die ihr im ersten Vergleich gegenüberstehende Gruppe $rr \times r^+r$, $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$, $R^2r \times R^2r$. Es steht also auf der einen Seite lediglich die Kombination $r^+r \times rr$ mit kaum nenneswerten Abweichungen, während auf der anderen Seite die große Gruppe $r^+r \times r^+r$, $rr \times r^+r$, $R^2r \times rr$ und $rr \times R^2r$, $R^2r \times R^2r$ mit völlig gleichsinnigen Abweichungen steht.

21. $R^2r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 23). Die Männchenraten dieser Zuchten stehen in gutem Einklang mit den Männchenprozenten in R^2-Reinzuchten (Tabelle 4), sowie

solchen aus den Paarungen $R^2R^2 \times R^2$ und $R^2 \times R^2R^2$ (Tabelle 11). Bei einer mittleren Männchenrate von 71,58% sind hier also lediglich Werte von fast 100 ♂♂-% bis zu 50 ♂♂-% realisiert. Auch die Männchenindices der Kombinationen $r^+r \times R^2r^+$ und $R^2r^+ \times r^+r$ (Tabelle 15) entsprechen weitgehend denen der $R^2r^+ \times R^2r^+$-Zuchten. — Die Übereinstimmung mit der Kombination $R^2r^+ \times rr$ (Tabelle 16) dürfte dagegen mehr zufällig sein, da nach anderen Erfahrungen gerade dort mit dem Auftreten weibchenreicher Zuchten gerechnet werden muß.

Das Mendelverhältnis der Farbklassen ist wie immer ungestört.

Sehr aufschlußreich sind nun auch hier die Geschlechtsverhältnisse der beiden Phänotypen r^+r^+ und R^2 sowie die Farbaufspaltung der Geschlechter: Unter den r^+r-Tieren sollte eigentlich ein Geschlechtsverhältnis erwartet werden, das dem der r^+-Reinzuchten entspricht und das also etwa 3 ♀♀ : 1 ♂ betragen müßte. Statt dessen findet sich hier ein 1 : 1-Geschlechtsverhältnis, während die Farbklasse R^2 mit 76,78 ♂♂-% tatsächlich das erwartete durchschnittliche Geschlechtsverhältnis der R^2-Reinzuchten erreicht. Dementsprechend weicht die Farbaufspaltung innerhalb der Geschlechter stark von dem erwarteten Wert ab. Diese Abweichung ist fehlerkritisch gesichert.

Ein Vergleich mit der nahestehenden Kombination $r^+r \times R^2r^+$ (Tabelle 12), ebenso mit der Kombination $R^2r^+ \times rr$ (Tabelle 16) zeigt — wie erwartet — eine völlig entsprechende Verschiebung der Differenzen.

Es herrscht aber noch mit anderen Kombinationen Übereinstimmung: Bei allen Kombinationen (außer $r^+r \times rr$-Zuchten; Tabelle 17), die rote (rr) Tiere herausspalten, konnte — wie bereits ausgeführt — festgestellt werden, daß sich die beiden anderen Phänotypen r^+ und R^2 jeweils hinsichtlich ihrer Geschlechtsverhältnisse in den verschiedenen Farbklassen und ihrer Aufspaltung bei ♀♀ und ♂♂ mehr oder weniger identisch verhalten (s. S. 307; Tabellen 19—22). Bei ihnen kommen also stets relativ mehr ♀♀ als ♂♂ vor, während unter den roten (rr) Tieren die ♀♀ stets in der Minderzahl sind.

In der vorliegenden Kombination nun — und ebenso auch in der Kombination $r^+r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 12) — tritt die Farbklasse R^2 an die Stelle der rr-Gruppe. Unter diesen R^2-Tieren befinden sich also mit anderen Worten weniger ♀♀ als erwartet; sie zeigen also ein Verhalten, das sonst für die rote (rr) Farbklasse charakteristisch ist. Unter den r^+r^+-Tieren finden sich dagegen wieder relativ viel mehr ♀♀ als ♂♂, wie dies auch den sonstigen Erfahrungen entspricht.

Unter diesen Voraussetzungen herrscht in den Abweichungen von den erwarteten Verhältnissen vollkommene Übereinstimmung bei den Kombinationen $R^2r^+ \times R^2r^+$ sowie $r^+r^+ \times R^2r^+$ (Tabelle 12) einerseits [auch die Kombination $R^2r^+ \times rr$ (Tabelle 16) kann hier angeschlossen werden] und $rr \times r^+r$, $R^2r^+ \times rr$ bzw. $rr \times R^2r^+$, $R^2r^+ \times R^2r$, $r^+r \times r^+r$ (Tabellen 19—22) andererseits.

22. $r^+r \times R^2r$ *und* $R^2r \times r^+r$ (Tabelle 24). Das Vorkommen der verschiedensten auch sonst beobachteten Männchenindices in dieser Paarungsgruppe fordert speziell zu einem Vergleich mit den Kombinationen $r^+r \times rr$ (Tabelle 17) und $r^+r \times r^+r$ (Tabelle 22) heraus, bei denen offensichtlich ein ähnliches Verhalten vorliegt. Auch die Kombination $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7) und vielleicht $R^2R^2 \times rr$ (Tabelle 9) könnten hier ausgeschlossen werden. Dabei kann besonders im Hinblick

auf die nahestehende Kombination $r^+r \times r^+r$ (Tabelle 22) von vornherein ein übereinstimmendes Verhalten erwartet werden.

Außerdem darf man gerade bei dieser Kombination besonders guten Aufschluß über die Beziehungen zwischen den Farballelen und den Geschlechtsverhältnissen erhoffen, da sie in alle 3 möglichen Phänotypen aufspaltet und somit auch für die Geschlechtsverhältnisse 3 verschiedene Möglichkeiten offenläßt.

Tabelle 24. *Das Geschlechtsverhältnis und die Farbklassen in den Zuchten $r^+r \times R^2r$ und $R^2r \times r^+r$*

Nr.	Zucht	Geschlechtsverhältnis				Farbklassen		
		Anzahl	♀♀	♂♂	♂♂ %	R^2	r^+	rr
1	526	12	—	12	100,00	3	7	2
2	410	15	2	13	86,67	5	3	7
3	471	57	12	45	78,95	27	20	10
4	E39	42	10	32	76,19	21	13	8
5	386	37	10	27	72,97	17	8	12
6	457	62	18	44	70,97	32	11	19
7	561	62	25	37	59,96	35	16	11
8	439	17	10	7	41,18	3	8	6
9	620	16	12	4	25,00	9	4	3
10	907	20	15	5	25,00	11	6	3
	Summe	340	114	226	66,47	163	96	81
					M = 63,69	gef. 163 R^2 : 96 r^+ : 81 rr		
					$\sigma \pm 24{,}3$	erw. 170 R^2 : 85 r^+ : 85 rr		
						−7	+11	−4
						$3\,m_1 = \pm 27{,}7$		
						$3\,m_2 = \pm 23{,}9$		

GV. R^2
47 ♀♀ : 116 ♂♂ = 71,17 ♂♂-%

GV. r^+r
42 ♀♀ : 54 ♂♂ = 56,52 ♂♂-%

GV. rr
25 ♀♀ : 56 ♂♂ = 69,14 ♂♂-%

Farbklassen der ♀♀
gef. 47 R^2 : 42 r^+ : 25 rr
erw. 57 R^2 : 28,5 r^+ : 28,5 rr
−10 +13,5 −3,5
$3\,m_1 = \pm 16$
$3\,m_2 = \pm 13{,}9$

Farbklassen der ♂♂
gef. 116 R^2 : 54 r^+ : 56 rr
erw. 113 R^2 : 56,5 r^+ : 56,5 rr
+3 −2,5 −0,5
$3\,m_1 = \pm 22{,}6$
$3\,m_2 = \pm 19{,}5$

Die Gesamtheit der Tiere spaltet ohne nennenswerte Abweichungen im Verhältnis 50% R^2 : 25% r^+r : 25% rr.

Bei der braunen Farbklasse R^2, in der ja R^2r^+- und R^2r-Tiere enthalten sind, entspricht das Geschlechtsverhältnis mit 71,17 ♂♂-% etwa dem der R^2-Reinzuchten (Tabelle 4), oder noch besser dem der $R^2R^2 \times R^2$- sowie $R^2 \times R^2R^2$-Zuchten, die ja neben R^2R^2- auch R^2r^+- und R^2r-Tiere enthalten. Verglichen mit der Gesamtheit der Tiere enthält diese Farbklasse also ♀♀ in der Minderzahl und ♂♂ in der Überzahl ($\pm$ 4,7%).

Die rote Farbklasse (rr) verhält sich recht ähnlich wie die soeben besprochene, wenn auch nicht ganz so ausgeprägt. Allerdings entspricht hier das Geschlechtsverhältnis mit 69,14 ♂♂-% nicht dem der Reinzuchten, wie man zunächst hätte

erwarten können. Dies kann aber nicht allzusehr überraschen, wenn man bedenkt, daß diese Farbklasse schon einmal, nämlich in der Kombination $r^+r \times r^+r$ (Tabelle 22) ein ähnliches Verhalten zeigte.

Während also die braune und die rote Farbklasse (R^2 und rr) in gleicher Richtung verschobene Werte aufweisen, verhält sich die graue Gruppe (r^+r) genau umgekehrt. Hier überwiegen die ♀♀ — verglichen mit der Gesamtzahl der Tiere — um fast 10% und die ♂♂ sind deutlich in der Minderzahl. Ihr Geschlechtsverhältnis von 56,52 ♂♂-% bringt im Vergleich mit demjenigen anderer r^+r-Tiere keine Besonderheiten, falls nicht rote (rr) Muttertiere verwendet wurden. In der Kombination $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7), deren Nachkommen ja die genetische Konstitution r^+r besitzen, beträgt der Männchenindex 57,39% und bei den r^+r-Tieren aus der Kombination $r^+r \times rr$ (Tabelle 17) 54,10%.

E. Die Farballele und deren relative geschlechtsrealisierende Wirkung

I. Zusammenfassung des Tatsachenmaterials

In Tabelle 25 sind die geprüften verschiedenartigen Kreuzungskombinationen und Reinzuchten (Tabellen 3—24) der 3 Farballele R^2, r^+ und r hinsichtlich ihrer durchschnittlichen Männchenindices angordnet. Die Werte beziehen sich auf alle in der Arbeit berücksichtigten 6898 Individuen aus 245 Zuchten.

Tabelle 25. *Die Paarungskombinationen und das Geschlechtsverhältnis in deren Nachkommenschaften*

Lfd. Nr.	♀♀ × ♂♂	Anzahl der Zuchten	M % ♂♂	σ %
1	$rr \times rr$	16	96,39	6,6
2	$*rr \times r^+r^+$	4	97,68	3,1
3	$*rr \times r^+r$	13	95,83	5,8
4	$R^2r \times R^2r$	26	92,80	8,7
5	$R^2r \times rr$ u. rez.	12	91,20	8,2
6	$R^2R^2 \times rr$	9	86,52	17,6
7	$R^2r^+ \times rr$	7	77,84	16,4
8	$R^2R^2 \times R^2$ u. rez.	28	75,89	16,3
9	$R^2r^+ \times R^2r^+$	13	71,58	13,4
10	$r^+r \times R^2r^+$ u. rez.	8	69,79	18,7
11	$R^2R^2 \times R^2R^2$	9	68,42	11,1
12	$r^+r \times R^2r$ u. rez.	10	63,69	24,3
13	$r^+r \times R^2R^2$	3	60,57	—
14	$r^+r^+ \times R^2r$	3	57,63	19,5
15	$r^+r \times r^+r$	19	54,53	19,9
16	$*r^+r^+ \times rr$	8	54,47	24,6
17	$*R^2r^+ \times r^+r^+$	4	53,46	21,5
18	$*r^+r \times rr$	23	53,38	22,4
19	$r^+r^+ \times r^+$ u. rez.	14	48,88	16,9
20	$*r^+r^+ \times R^2r^+$	11	40,86	15,7
21	$r^+r^+ \times R^2R^2$	5	32,30	14,6
22	$r^+r^+ \times r^+r^+$	10	23,93	11,3

Die Anzahl der geprüften Zuchten ist allerdings in einigen Kombinationen recht spärlich. Aus diesem Grunde ist auch die Stellung einiger dieser Kombinationen in der Reihe der abfallenden Männchenindices nicht immer ganz sicher. Es dürfte sich dabei jedoch allenfalls um kleinere Verschiebungen handeln, deren Berichtigung das grundsätzliche Bild nicht wesentlich verändern würde.

In diesem Zusammenhang sei besonders auf die ersten beiden Kombinationen hingewiesen, deren Reihenfolge korrigiert wurde. Diese Umstellung ist zumindestens schon deswegen berechtigt, weil die Unterschiede der durchschnittlichen Werte so gering sind, daß sie nahezu als gleich zu bewerten sind. Ob darüber hinaus die $rr \times rr$-Gruppe tatsächlich mehr ♂♂ ergibt als die $rr \times r^+r^+$-Kombination, muß allerdings vorerst dahingestellt bleiben. Von besonderem Interesse ist außerdem, daß die Männchen-

indices von 18 der geprüften 22 Kombinationen über der 50%-Grenze liegen, während sich nur 4 Kombinationen darunter befinden.

Die Streuung der einzelnen Kombinationen weist sehr unterschiedliche Werte auf. Trotzdem können aber hier wenigstens 2 allgemeine Feststellungen getroffen werden.

1. Die Streuung beginnt in den männchenreichen Kombinationen mit relativ kleinen Werten, erreicht ihr Maximum bei den mittleren Indices von 50 ♂♂-% bis 60 ♂♂-%, um schließlich in den weibchenreicheren Kombinationen wieder mit einer relativ kleinen Streuung zu enden.

2. Die 3 reinerbigen Kombinationen besitzen jeweils eine relativ geringe Streuung. Dies fällt besonders bei den R^2-Reinzuchten ins Auge, die inmitten von Kombinationen mit weit größerer Streuung liegen.

Betrachtet man nun diese aus der Anordnung der Männchenindices hervorgegangene Reihe der Kombinationen etwas näher, dann ergibt sich eine auffallende Korrelation: Am Anfang dieser Reihe stehen nämlich die *r*-, in der Mitte die R^2- und am Ende die r^+-Reinzuchten. Die gleiche Reihenfolge findet sich auch bei der Anordnung der Muttertiere wieder: Am Anfang stehen die *rr*-♀♀; in heterozygoter Kombination reicht das *r*-Allel mit allmählich abnehmender Männchenrate bis zur Kreuzungskombination $r^+r \times rr$ (Nr. 18). Die R^2-Muttertiere sind mit einer Ausnahme (Nr. 17) alle um den Wert von etwa 75 ♂♂-% konzentriert. Die R^2r-♀♀ stehen dabei an erster Stelle. In dieser Weise fällt die Reihe der Muttertiere über die heterozygoten r^+-♀♀ kontinuierlich zu den homozygoten r^+r^+-♀♀ mit den geringsten Männchenwerten ab.

Eine solche durchlaufende Ordnung ist in der Reihe der Vatertiere nicht zu finden. Homozygote und heterozygote *r*- und r^+-Vatertiere werden in männchenreichen Kombinationen genau so angetroffen wie in weibchenreichen. Es fällt höchstens eine gewisse Konzentration von R^2-Vatertieren in Kombinationen mit Männchenindices von etwa 70% auf — ein Platz in der Reihe, der etwas niedriger liegt als derjenige entsprechender Muttertiere.

Von besonderem Interesse ist noch die Stellung der getrennt geprüften reziproken Kreuzungskombinationen (in Tabelle 25 mit einem * gekennzeichnet). Die $rr \times r^+r^+$- und $rr \times r^+r$-Paarungen finden sich ganz am Anfang, die reziproken Kreuzungen dagegen am Ende. Ebenso steht die Kombination $R^2r^+ \times r^+r^+$ — wenn auch ziemlich am Ende der Reihe — immer noch vor der reziproken Kombination $r^+r^+ \times R^2r^+$.

Von den 36 möglichen Elternkombinationen konnten nur 29 untersucht werden; die übrigen konnten bisher aus kreuzungstechnischen Gründen (zumeist mangels ♀♀ aus männchenreichen und ♂♂ aus weibchenreichen Kombinationen) nicht hergestellt werden. Von diesen 29 geprüften Paarungsgruppen sind wiederum 7 in den Paarungen $R^2R^2 \times R^2$, $R^2 \times R^2R^2$ sowie $r^+r^+ \times r^+$ und $r^+ \times r^+r^+$ enthalten, so daß insgesamt nur 22 Kombinationen angeführt sind (vgl. Tabelle 25).

Aus der offenbar gesetzmäßigen Folge der Kreuzungskombinationen, die ihre Entstehung der Parallelität zwischen der Höhe der Männchenindices und dem Genotyp der Eltertiere verdanken, ergäbe sich nun aber die Möglichkeit, auch die nichtgeprüften Kreuzungskombinationen wenigstens ihrer ungefähren Stellung nach einzuordnen. Dabei müßte nach den bisherigen Erfahrungen der genetischen Konstitution des Muttertieres die jeweils größte Bedeutung zugesprochen werden. Es sei jedoch auf diese Möglichkeit einer Voraussage des Geschlechtsverhältnisses nicht näher eingegangen.

Das in Tabelle 25 zusammengestellte und bisher besprochene Tatsachenmaterial zwingt nun zu dem Schluß, daß Muttertiere und Vatertiere einen ungleich großen Einfluß auf die Geschlechtsrealisation ihrer Nachkommen ausüben. Die offensichtlich ganz kontinuierliche Reihe der mütterlichen Genotypen im Gegensatz zu der fast regellosen Anordnung der väterlichen könnte sogar auf den ersten Blick zu der Annahme verleiten, daß der Einfluß des Vatertieres überhaupt sehr gering, wenn nicht sogar bedeutungslos sei. Ein solcher Schluß ist aber nicht ohne weiteres gerechtfertigt. Um diese Frage näher diskutieren zu können, wird nun zunächst eine Prüfung der Frage notwendig sein, ob es überhaupt berechtigt ist, das Auftreten der verschiedensten Männchenindices auf eine, wenn auch relative, geschlechtsrealisierende Wirkung der Farballele zurückzuführen, wie dies eingangs vorausgesetzt wurde.

II. Die theoretischen Möglichkeiten einer Deutung der Befunde

Theoretisch gibt es für das Auftreten unterschiedlicher Geschlechtsverhältnisse in monogenen Allelkombinationen eine ganze Anzahl von Erklärungsmöglichkeiten, die bereits von DE LATTIN (1950) zusammengestellt wurden. Seine Überlegungen beziehen sich zwar auf bestimmte Farballele der Landasseln *Porcellio* und *Tracheoniscus*, aber sie sind ebenso auch für die vorliegenden Untersuchungen gültig. Nach DE LATTIN könnten die unterschiedlichen Geschlechtsverhältnisse durch folgende Möglichkeiten zustande kommen:

A. Durch sekundäre Modifikation der primär gegebenen Aufspaltungsverhältnisse.

1. Durch unterschiedliche Sterblichkeit der Geschlechter in den verschiedenen Farbrassen.
2. Durch gerichtete Reduktion unter Einwirkung des Farbgens.
3. Durch Geschlechtsumwandlung.
4. Durch Certation, d. h. unterschiedliche Befruchtungschancen der für das Farballel verschiedenen Spermien.
5. Durch Beeinflussung der Farbmanifestation unter dem Einfluß des Geschlechts.

B. Durch direkte Einwirkung autosomaler Gene.

1. Durch ein mit dem Farbgen sehr eng oder absolut gekoppeltes Gen.
2. Durch direkte Wirkung der Farballele."

In Anbetracht dieser verschiedenen theoretisch möglichen Ursachen für das Auftreten der unterschiedlichen Geschlechtsverhältnisse erscheint es nun zweckmäßig, im folgenden zunächst alle diejenigen Möglichkeiten auszuschließen, die mit den experimentellen Befunden an *Gammarus pulex* nicht in Einklang stehen.

1. Die Möglichkeit einer unterschiedlichen Sterblichkeit der Geschlechter. Tatsächlich mußte in den Zuchten stets mit großen Ausfällen gerechnet werden, und eine unterschiedliche Sterblichkeit der Geschlechter war nach den Angaben von HAEMPEL (1908) und HEINZE (1932) eigentlich zu erwarten. Nach den Beobachtungen dieser Autoren sollen gerade die ♀♀ wegen ihrer zyklischen Häutungen im Durchschnitt eher sterben als die ♂♂. Abgesehen davon, daß diese Angaben weder durch biologische Beobachtungen an gezüchteten Flohkrebsen, noch durch Auszählungen an den oberirdischen Populationen (vgl. Tabellen 1 und2; S. 293) bestätigt werden konnten, wäre diese Annahme aber nur eine mögliche Erklärung für die männchenreichen, vorwiegend die Allele r und R^2 enthaltenden Kombinationen. Hinsichtlich der weibchenreichen, vorwiegend das Allel r^+ enthaltenden Kombinationen wäre man dann zu der Annahme gezwungen, daß hier in gerade umgekehrter Weise die ♂♂ selektiv früher abgestorben wären als die ♀♀. Diese Vorstellung einer in gegensätzlicher Richtung verlaufenden selektiven Letalität der Geschlechter wirkt von vornherein unwahrscheinlich. Es kommt hinzu, daß die Auszählung im allgemeinen schon gleich nach Eintritt der Geschlechtsreife stattfand, also wesentlich früher, als eine nach HAEMPEL und HEINZE zu erwartende erhöhte Sterblichkeit der ♀♀ einsetzen sollte.

Neben diesen mehr allgemeinen Argumenten sprechen aber vor allen Dingen folgende Befunde gegen eine selektiv erhöhte Sterblichkeit eines der beiden Geschlechter:

1. Es wurden in einigen Zuchten durch größte Sorgfalt bei der Pflege, wie sie verständlicherweise nur bei einigen wenigen Zuchten möglich war, die Verluste bis zum Eintritt der

Geschlechtsreife auf ein Minimum herabgesetzt. Bei einer durchschnittlichen Wurfgröße von 8—10 Jungtieren, die bei *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* schon frühzeitig an den vom Ovar her durchscheinenden Eiern erkannt werden kann, darf bei 12 Würfen aus 2 Fortpflanzungsperioden mit nur verschwindend geringen Ausfällen gerechnet werden, wenn z. B. in der *r*-Reinzucht Nr. Q2 (Tabelle 5) 110 Jungtiere oder in der $r^+r \times rr$-Zucht Nr. 304 (Tabelle 17) 128 Jungtiere gezählt wurden. Dabei brachte Zucht Nr. Q2 110 ausschließlich männliche und Zucht Nr. 304 115 weibliche und nur 13 männliche Nachkommen. Diese Ergebnisse sind auf keinen Fall durch die minimalen Ausfälle in diesen Zuchten erklärbar. Um die Bedingungen eines 1 : 1-Geschlechtsverhältnisses zu erfüllen, müßten in Zucht Nr. Q2 etwa 110 ♀♀ und in Zucht Nr. 304 etwa 102 ♂♂ in irgendeinem früheren Entwicklungsstadium zugrunde gegangen sein; es hätten also ursprünglich Nachkommenschaften von etwa 220 bzw. 230 Individuen vorliegen müssen. Diese Annahme ist aber — abgesehen davon, daß so hohe Ausfälle hätten gar nicht verborgen bleiben können — schon deswegen ganz ausgeschlossen, weil derartig hohe Nachkommenschaftszahlen die Fortpflanzungsrate eines jeden ♀ von *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* weit überschreiten würden.

2. Wäre eine selektive Sterblichkeit jeweils eines Geschlechtes gegeben — stürben also einerseits unter den *r*- und R^2-Phänotypen bevorzugt die ♀♀, unter den r^+-Phänotypen andererseits bevorzugt die ♂♂ —, dann müßten in den Kreuzungskombinationen mit Mendelspaltung z. T. erhebliche Störungen der erwarteten Mendelverhältnisse auftreten. Das ist aber nicht der Fall. Die Spaltungszahlen der Gesamtzuchten sind ganz normal. Die Mendelverhältnisse erscheinen nur dann verschoben, wenn die Geschlechter getrennt betrachtet werden.

Allerdings treten einige wenige Zuchten mit wirklich gestörten Mendelverhältnissen auf, und diese lassen sofort an eine sekundäre Modifikation eines primären Geschlechtsverhältnisses denken. Dies ist z. B. in den Zuchten 546 (vgl. Tabelle 15 und S. 300) und 525 (vgl. Tabelle 20 und S. 304) der Fall. Ein solches Verhalten ist aber eine Ausnahme, die nicht verallgemeinert werden darf. Es wird aber hieraus ersichtlich, daß in spaltenden Kreuzungskombinationen derartige sekundäre Verschiebungen durch selektive Sterblichkeit eines Geschlechtes nicht unbemerkt bleiben können.

2. Die Möglichkeit des Vorhandenseins gerichteter Reduktion. Die erste und wichtigste Voraussetzung, um die unterschiedlichen Geschlechtsverhältnisse durch gerichtete Reduktion unter dem Einfluß der Farballele zu erklären, wäre das Vorhandensein eines Heterosomenmechanismus.

Nun konnten Geschlechtschromosomen in den cytologischen Untersuchungen von Poisson und Le Calvez (1948) und Le Calvez und Certain (1951) weder für *Gammarus pulex* noch für eine ganze Anzahl weiterer Amphipoden nachgewiesen werden. Damit ist das Vorhandensein von Geschlechtschromosomen bei *Gammarus pulex* zwar nicht widerlegt; es könnte hier der Fall vorliegen, daß die Heterosomen keine im cytologischen Bild faßbaren Merkmale besitzen, aber dennoch als solche vorhanden sind (wie z. B. bei *Lebistes reticulatus* [Winge], und *Platypoecilus maculatus* [Bellamy, Gordon, Kosswig u. a.]). Allerdings sprechen die bisher vorliegenden genetischen Untersuchungen an *Gammarus pulex* durchaus gegen eine solche Annahme.

Die zweite Voraussetzung für eine gerichtete Reduktion wäre das Vorkommen weiblicher Heterogametie. Unter dieser Annahme müßte dann — wollte man etwa die rein oder doch vorwiegend männlichen Nachkommen roter (*rr*) Muttertiere durch gerichtete Reduktion erklären — im Verlauf der Reduktionsteilung bei den ♀♀ das weiblichbestimmende Y-Chromosom unter dem Einfluß des mütterlichen Allels *r* stets oder doch ganz vorwiegend in den Richtungskörper abgedrängt werden. Bei flüchtiger Betrachtung scheint zunächst das völlig abweichende durchschnittliche Geschlechtsverhältnis der reziproken Kreuzungskombinationen tatsächlich für diese Annahme zu sprechen (vgl. Tabelle 25 Nr. 2 und 16, 3 und 18). Für die weibchenreichen Nachkommenschaften grauer r^+r^+-Muttertiere müßte dann allerdings angenommen werden, daß hier nun gerade umgekehrt das männchenbestimmende X-Chromosom unter dem Einfluß des Allels r^+ bevorzugt in den Richtungskörper verlagert würde. Aber schon diese Deutung bereitet Schwierigkeiten, da nicht alle Nachkommenschaften von r^+r^+-Muttertieren weibchenreich sind. — Für die Zuchten mit r^+r-Muttertieren gilt sinngemäß dasselbe.

Außerdem zwingen die von den r^+-Reinzuchten (M = 23,9 ♂♂-%; Tabelle 3) abweichenden Verhältnisse in den Kombinationen $r^+r^+ \times rr$ (M = 54,47 ♂♂-%; Tabelle 7) und $r^+r^+ \times R^2r$ (M = 57,63 ♂♂-%; Tabelle 14) bei Annahme weiblicher Heterogametie und gerichteter Reduktion noch zu einer weiteren Hilfsannahme. Hier macht sich nämlich offensichtlich ein Einfluß des Vatertieres bemerkbar, da sonst das Geschlechtsverhältnis von r^+r^+-Muttertieren — analog dem von rr-Muttertieren — ein einheitliches Bild ergeben müßte. Tatsächlich sind aber in Kombinationen von r^+r^+-Muttertieren mit Vatertieren verschiedener Konstitution mittlere Männchenindices von M = 23,93 bis fast zu 60% vertreten. Es müßte also jetzt angenommen werden, daß die Reduktionsteilung bei den ♀♀ erst nach der Besamung der Eier stattfände und daß die Elimination des X- bzw. des Y-Chromosoms auch von den Farballelen des Vatertieres entscheidend beeinflußt würde. Ein väterliches r-Allel (oder auch R^2-Allel) würde also der Tendenz des mütterlichen Allels r^+, das männchenbestimmende X-Chromosom zu eliminieren, entgegenwirken. Der Effekt wäre dann — wie es auch in den Kreuzungskombinationen $r^+r^+ \times R^2r$ und $r^+r^+ \times rr$ verwirklicht ist — ein durchschnittliches Geschlechtsverhältnis von etwa 50% ♀♀: 50% ♂♂. Im Gegensatz zu den Kombinationen mit r^+r^+-Muttertieren hätte dann aber das vom Vatertier stammende Farbgen in Kombinationen mit rr-Muttertieren gar keinen Einfluß auf die erst nach der Befruchtung stattfindende Reduktionsteilung. — Für die anderen Elternkombinationen erübrigt sich die nähere Erörterung. Hier dürfte lediglich mit Übergängen zwischen den besprochenen Extremen zu rechnen sein.

Unter der Annahme weiblicher Heterogametie verbunden mit gerichteter Reduktion und unter der weiteren Hilfsannahme, die Reduktionsteilung fände erst nach der Besamung statt, und dies erlaube deshalb in gewissen Fällen dem vom Vatertier stammenden Farballel an der Entscheidung mitzuwirken, ob das X- oder das Y-Chromosom in den Richtungskörper verlagert werde, lassen sich eine ganze Anzahl von Einzeltatsachen deuten. Man wird indessen bei einer genaueren Analyse ständig zu weiteren Hilfsannahmen gezwungen. Es sollen deshalb nochmals die reziproken Kreuzungskombinationen $rr \times r^+r^+$ und $r^+r^+ \times rr$ sowie $rr \times r^+r$ und $r^+r \times rr$ betrachtet werden. Die reziproken Paarungen ergeben nämlich nicht nur unterschiedliche durchschnittliche Geschlechtsverhältnisse in den Nachkommenschaften, sondern außerdem ist die Streuung der Männchenindices grundverschieden. Dies zu deuten, wären alle erdachten Hilfsannahmen, die auf der Annahme weiblicher Heterogametie verbunden mit gerichteter Reduktion basierten, gekünstelt und unbefriedigend.

3. Die Möglichkeit einer Geschlechtsumwandlung. Zwar liegen bisher keine Beobachtungen vor, die eine häufig vorkommende Geschlechtsumkehr bei *Gammarus pulex* beweisen oder auch nur wahrscheinlich machen[1]. Doch kann die Möglichkeit einer Geschlechtsumwandlung deswegen nicht von vornherein abgelehnt werden. Dies gilt um so mehr, als einige Tatsachen bekannt sind, die zumindest in dieser Richtung gedeutet werden könnten.

LE ROUX (1931 und 1933) hatte Flohkrebse mit Radiumstrahlen behandelt und danach Veränderungen an den sekundären Geschlechtsmerkmalen — vornehmlich an den Oostegiten — beobachtet. Ähnliche Veränderungen hat sie an Gammariden festgestellt, die mit dem Acanthocephalen *Polymorphus* infiziert waren. Solche parasitär bedingten Modifikationen der sekundären Geschlechtsmerkmale wurden nun in eigenen, noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen bestätigt. Es zeigte sich nämlich, daß mit bestimmten Microsporidien[2] befallene Flohkrebse, die an einer auffallenden hellen Tüpfelung der Segmente leicht erkannt werden können, mehr oder weniger stark ausgeprägte intersexe Charaktere aufweisen und steril sind.

Besonders aufschlußreich sind diesbezüglich die operativ-experimentellen Arbeiten von CHARNIAUX (seit 1953), die zeigen, daß die Differenzierung der primären und sekundären Geschlechtsmerkmale des Amphipoden *Orchestia gammarella* hormonalen Einflüssen unterliegt, wie dies bereits von DE LATTIN und GROSS (1953) und DE LATTIN (1955) für Isopoden

[1] Allerdings liegt unter den von uns insgesamt untersuchten vielen tausend Flohkrebsen ein sicherer Fall von Geschlechtsumkehr eines Individuums vor, das zunächst als Männchen fertil war (weibliche Nachkommen), dann jedoch nach der Umwandlung in ein ♀ nicht dazu in der Lage war, die Eier aus dem Ovar in das Marsupium auszustoßen.

[2] Die Bestimmung der Art (wahrscheinlich *Microsporidium Gammari*) steht noch aus. — Herrn Prof. Dr. PFLUGFELDER, Stuttgart-Hohenheim, danke ich für seine wertvollen Hinweise bei der Bearbeitung dieser Frage.

(*Oniscus asellus*) nachgewiesen und von Legrand (1954ff.) und Balesdent-Marquet (1955, 1956) bestätigt und erweitert wurde. — Diese Befunde besagen allerdings wenig über das vorliegende Problem. Sie zeigen aber, daß die Differenzierung des Geschlechts bei Amphipoden recht labil ist und unter bestimmten Bedingungen modifiziert werden kann.

Weitere Beobachtungen könnten ebenfalls in dieser Richtung gedeutet werden. So werden z. B. Ausnahmeweibchen in männchenreichen Zuchten und Ausnahmemännchen in weibchenreichen Zuchten fast immer sehr spät, und zwar erst dann geschlechtsreif, wenn ihre gleichaltrigen Geschwister längst fertil geworden sind. Unter der Voraussetzung eines primären Geschlechtsverhältnisses von 50% ♀♀ : 50% ♂♂ würde sich dann z. B. im Falle vorwiegend männlicher Nachkommen die Mehrzahl der genetisch weiblichen Individuen zu irgendeinem Zeitpunkt vor der aus technischen Gründen erst relativ spät durchführbaren Auszählung unter der Wirkung der Farballele zu ♂♂ umwandeln. Umgekehrt müßten sich bei vorwiegend weiblicher Nachkommenschaft gerade die primär männlichen Individuen in prinzipiell gleicher Weise in ♀♀ verwandeln. Die auftretenden Ausnahmeweibchen bzw. Ausnahmemännchen hätten sich dann aus irgendeinem nicht näher bekannten Grunde dieser Geschlechtsumwandlung entzogen.

Aus all diesen Gründen ist die Möglichkeit einer Geschlechtsumwandlung bei *Gammarus pulex* grundsätzlich in Erwägung zu ziehen. Jedoch wäre mit dieser an sich sehr unwahrscheinlichen Interpretation aber für das vorliegende Problem gar nichts gewonnen, weil sich dann sogleich die Frage nach den Ursachen einer solchen Geschlechtsumwandlung erhöbe.

Ganz abgesehen von dieser Feststellung verliert aber diese Möglichkeit noch sehr viel von ihrer Wahrscheinlichkeit, wenn man versucht, sie auf Elternkombinationen mit weniger extremen Männchenindices und gleichzeitig geringerer Streuung (also etwa auf R^2-Reinzuchten) anzuwenden. Es müßte nämlich jetzt von den hypothetischen, die Geschlechtsumwandlung bewirkenden Faktoren gefordert werden, daß sie einen bestimmten, erblich festgelegten Teil der Nachkommenschaft zur Geschlechtsumwandlung zwingen oder ihn umgekehrt von einer solchen ausschließen.

Jedenfalls sind alle diese auf der Möglichkeit einer Geschlechtsumwandlung basierenden Interpretationsversuche unbefriedigend.

4. Die Möglichkeit des Vorhandenseins von Certation. Abgesehen davon, daß in cytologischen Untersuchungen keine Heterochromosomen nachgewiesen werden konnten (vgl. S. 313), und damit auch das Vorkommen männlicher Heterogametie als Voraussetzung für eine mögliche Certation unwahrscheinlich ist, und daß außerdem die Mendelverhältnisse der Farbklassen stets ungestört sind, lehrt ein Blick auf die Übersichtstabelle 25 sofort, daß gerade dem Genotyp des Vatertieres eine weitaus geringere Rolle am Zustandekommen der aberranten Geschlechtsverhältnisse zugesprochen werden muß als demjenigen des Muttertieres. Man könnte sich jedoch — wollte man an der Vorstellung der Certation festhalten — vorstellen, die Befruchtungschancen der mit verschiedenen Farballelen ausgestatteten Spermien seien im unterschiedlichen genotypischen Milieu der Muttertiere jeweils modifiziert. Indessen wird auch diese Denkmöglichkeit durch die folgende Tatsache widerlegt. So weist z. B. die rote (*rr*) Farbklasse der Nachkommen aus $r^+r \times r^+r$-Zuchten 76,55 ♂♂-% auf, während dieselbe Farbklasse in $r^+r \times rr$-Nachkommenschaften nur 48,63 ♂♂-% besitzt (Tabelle 17 und 22). Dieser Befund ist mit der Annahme von der Wirksamkeit einer Certation unvereinbar, weil dann — in Anbetracht der ungestörten Mendelverhältnisse — die *r*-Spermien sowohl von r^+r- als auch von *rr*-Vatertieren in dem für beide Kreuzungskombinationen identischen Milieu der r^+r-Muttertiere die gleichen Befruchtungschancen haben sollten.

Da die Möglichkeit des Vorhandenseins einer Certation durch diesen Befund hinreichend widerlegt erscheint, erübrigt es sich, noch weitere Einzelheiten zu besprechen, die diesen Interpretationsversuch gleichfalls ad absurdum führen würden.

5. Die Möglichkeit des Einflusses des Geschlechtes auf die Farbmanifestation. Diese Erklärungsmöglichkeit kann von vornherein ausgeschieden werden, weil alle in dieser Hinsicht vorliegenden Befunde eindeutig gegen sie sprechen. So werden z. B. in Kombinationen mit r^+-Muttertieren die verschiedenartigsten Männchenraten beobachtet, ohne daß sich daraus Störungen bei der Mendelspaltung in Farbklassen ergeben hätten.

Mit dieser Möglichkeit sind aber zugleich alle Möglichkeiten erschöpft, die charakteristischen Geschlechtsverhältnisse in den Nachkommenschaften der geprüften Elternkombinationen durch sekundäre Modifikationen eines primär vorhandenen 1 : 1-Verhältnisses deuten zu wollen. Es verbleiben daher nur noch Erklärungsmöglichkeiten, die auf die Annahme eines Heterochromosomenmechanismus im klassischen Sinne verzichten. Bei einem solchen Verzicht muß nun aber gleichzeitig mit einem direkten Eingreifen der autosomalen Farballele selbst gerechnet werden oder mit dem Eingreifen eines mit dem Farbgen nahezu absolut gekoppelten Gens.

Eine endgültige Entscheidung zwischen den beiden Alternativen läßt sich vorerst nicht treffen. Dennoch hat die Vorstellung von dem Vorhandensein eines mit dem Farbgen eng gekoppelten geschlechtsbeeinflussenden Gens wenig Wahrscheinlichkeit für sich. Schon die Beobachtung, daß beide Rot-Allele r und R^2 das Geschlechtsverhältnis in grundsätzlich gleichartiger Weise verschieben, ist nicht gut mit dieser Vorstellung zu vereinbaren. Man ist nämlich jetzt zu der Annahme gezwungen, daß erstens durch einen Mutationsschritt etwa das r-Allel entstand, das rote Körperfarbe bedingt, zweitens aber gleichzeitig eine Mutation des hypothetischen geschlechtsbeeinflussenden Gens in einer bestimmten Richtung erfolgte. Hinsichtlich des Allels R^2 müßte dann genau dasselbe angenommen werden. In Anbetracht dieser Tatsachen erscheint es wohl gerechtfertigt, die beobachteten Wirkungen den Farballelen allein zuzuschreiben.

Im folgenden soll daher versucht werden, die Befunde über die Geschlechtsverhältnisse und über die Pigmentierung von *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* unter der gutbegründeten Voraussetzung, daß die Farballele selbst in die Geschlechtsbestimmung eingreifen, mit einem Minimum von Annahmen zu deuten.

III. Die Deutung der Befunde

Wie soeben gezeigt wurde, sind es mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit die Farballele selbst, die das Geschlechtsverhältnis in so auffallender und durchgreifender Weise beeinflussen. Weiterhin zwingen aber auch die gegebenen Tatsachen zu dem Schluß, daß Muttertiere und Vatertiere einen ungleich großen Einfluß auf das Geschlechtsverhältnis der Nachkommenschaft ausüben. Schließlich zwingen die vorliegenden Ergebnisse noch zu dem weiteren Schluß, daß das Geschlecht von Nachkommen bestimmter Kreuzungskombinationen, z. B. $r^+r^+ \times rr$ (Tabelle 7) und $r^+r \times rr$ (Tabelle 17), nur wenig oder auch gar nicht von den Farballelen beeinflußt wird, sondern daß hier offenbar andere Faktoren für die Geschlechtsrealisation entscheidend sind; denn hier treten die verschiedenartigsten Männchenindices auf, ohne daß irgendeine Beziehung zu den Farballelen erkannt werden kann. — Auch die Geschlechtsbestimmung oberirdisch lebender Flohkrebse, deren Populationen die multiplen Allele der r-Serie nicht oder in verschwindend geringer Konzentration enthalten, erfolgt natürlich auf Grund anderer Faktoren. Das Vorhandensein solcher hier nicht näher zu definierenden Faktoren zeigt aber, daß die Allele der r-Serie nur als relative Geschlechtsrealisatoren zu werten sind.

Aus diesen einleitenden Bemerkungen ergeben sich nun folgende Punkte, die näher besprochen werden müssen:

1. Die geschlechtsbeeinflussende Wirkung der Farballele mütterlicher und väterlicher Herkunft.

2. Die übrigen das Geschlecht beeinflussenden Erbfaktoren oder Faktorenkonstellationen.

1. Die geschlechtsbeeinflussende Wirkung der Farballele. a) Wegen ihres besonders auffallenden Einflusses auf die Geschlechtsbestimmung sei die Besprechung der jeweils vom Muttertier stammenden Farballele vorangestellt.

Die in Tabelle 25 aufgestellte Reihe der Muttertiere sei unter Vernachlässigung der jeweiligen genetischen Konstitution nur nach deren Phänotyp geprüft. Auf diese Weise entsteht eine fast kontinuierliche Reihe, die mit roten (rr) Muttertieren beginnt, dann zu braunen (R^2) Muttertieren übergeht und schließlich mit grauen (r^+) Muttertieren endet. Diese Tatsache beweist eindeutig, daß es vor allem das den Phänotyp bedingende Allel ist, das eine geschlechtsbeeinflussende Wirkung entfaltet. Dabei ist die männlich beeinflussende Wirkung des von roten Muttertieren stammenden r-Allels derartig stark, daß die Nachkommenschaften solcher ♀♀ fast ausschließlich zu ♂♂ determiniert werden, wodurch die an sich relative geschlechtsrealisierende Wirkung des r-Allels in diesen Kombinationen in den allermeisten Fällen zu einer absoluten gesteigert ist.

In etwas weniger starkem Maße — aber ebenfalls in männlicher Richtung — wird das Geschlechtsverhältnis in Nachkommenschaften brauner (R^2) Muttertiere durch das Allel R^2 beeinflußt. Solche Muttertiere lassen in ihren Nachkommenschaften Geschlechtsverhältnisse zu, die etwa zwischen 50 und 90 ♂♂-% schwanken können. Die männlich beeinflussende Wirkung des R^2-Allels ist also unverkennbar.

Sehr viel schwieriger ist es demgegenüber, sichere Angaben über die geschlechtsbeeinflussende Wirkung des Standardallels zu machen. Dies gilt nicht nur für die hier zur Diskussion stehenden Fälle, sondern — wie später noch gezeigt wird — ganz generell. Die Tatsache, daß die Nachkommen grauer (r^+) Muttertiere — mit Ausnahme von r^+-Reinzuchten und den Kreuzungskombinationen $r^+r^+ \times R^2R^2$ — in allen Kombinationen niedrige, mittlere und vor allen Dingen auch hohe Männchenindices besitzen, macht von vornherein jede das Geschlecht beeinflussende Wirkung des Standardallels zweifelhaft, und zwar unabhängig davon, ob es in heterozygotem oder homozygotem Zustand im Muttertier vorhanden war. So kommen denn auch die ausgesprochen niedrigen Männchenindices, die unter Umständen für eine das Geschlechtsverhältnis in weiblicher Richtung beeinflussende Wirkung des Standardallels sprechen könnten, auf ganz andere Weise zustande (vgl. S. 323).

Überblickt man diese auffälligsten Befunde, so läßt sich schon jetzt folgendes feststellen:

1. Das Allel r besitzt eine starke männlich beeinflussende Wirkung.

2. Die Wirkung des R^2-Allels ist ebenfalls männlich beeinflussend, wenn auch weniger stark ausgeprägt als die des Allels r.

3. Dem Standardallel r^+ fehlt offenbar jede geschlechtsbeeinflussende Wirkung, obwohl es zunächst den Anschein haben könnte, als sei eine solche — allerdings weiblich orientierte — vorhanden. Diese Feststellungen werden im folgenden in prinzipiell gleicher Weise immer wieder getroffen werden müssen.

Aus der Tatsache, daß sich die geschlechtsbeeinflussende Wirkung der den mütterlichen Phänotyp bedingenden Farballele auf die gesamte Nachkommenschaft erstreckt und daß ferner der Anschein erweckt wird, als wären die jeweils rezessiven Allele und auch die vom Vatertier stammenden Allele für das Geschlechtsverhältnis der Nachkommenschaften bedeutungslos, ergeben sich noch folgende Besonderheiten.

Es findet nämlich hier in voller Übereinstimmung mit den bereits publizierten (Anders 1956a) Beobachtungen, nach denen die jungen Flohkrebse

unabhängig von ihrer eigenen genetischen Konstitution bis zu einem nicht näher bestimmbaren Lebensalter dem Phänotyp des jeweiligen Muttertieres angehören und sich erst später erbgemäß umfärben, eine Prädetermination des Geschlechts statt.

Die überzeugenden Beispiele für eine solche geschlechtsbeeinflussende Wirkung eines Farballels auf prädeterminativer Grundlage liefern die Kreuzungskombinationen $rr \times r^+r^+$ und $rr \times r^+r$. Dabei müssen diese ungewöhnlich hohen Männchenindices allein oder doch wenigstens ganz überwiegend durch die prädeterminative Wirkung des homozygot in den Muttertieren vorhandenen r-Allels zustande gekommen sein, da die reziproken $r^+r^+ \times rr$- und $r^+r \times rr$-Kombinationen vollkommen andere Verhältnisse zeigen.

Auch dem Allel R^2 muß eine prädeterminative Wirkung zugesprochen werden, wenn auch die unterschiedlichen Ergebnisse an den beiden geprüften reziproken Kreuzungskombinationen $R^2r^+ \times r^+r^+$ (M = 53,46 ♂♂-%) und $r^+r^+ \times R^2r^+$ (M = 40,86 ♂♂-%) weniger stark in Erscheinung treten.

Wenn nun in Anbetracht der erwiesenen, das Geschlecht prädeterminativ beeinflussenden Wirkung der beiden Allele r und R^2 überprüft werden soll, ob hinsichtlich des Standardallels r^+ entsprechende Befunde vorliegen, so stößt diese Frage wieder auf gewisse Schwierigkeiten (vgl. S. 317). Zwar könnte man geneigt sein, die relativ niedrige durchschnittliche Männchenrate in den Kombinationen $r^+r^+ \times rr$ und $r^+r \times rr$ im Gegensatz zu den extrem hohen Werten der reziproken Kreuzungen auf eine prädeterminativ geschlechtsbeeinflussende Wirkung des Allels r^+ zurückzuführen, wie es im umgekehrten Fall für das r-Allel geschehen ist. Der Unterschied zwischen diesen reziproken Kreuzungskombinationen liegt jedoch nicht nur in den stark verschiedenen durchschnittlichen Männchenindices, sondern außerdem auch darin, daß im Falle roter (rr) Muttertiere eine kaum nennenswerte Streuung in Erscheinung tritt, während im Falle grauer (r^+r^+ und r^+r) Muttertiere sehr verschiedenartige Männchenindices vorkommen. Die Tatsache also, daß die einzelnen Zuchten in diesen Kombinationen keine einheitlichen Männchenindices zeigen, sondern so gut wie alle auch sonst vorkommenden Werte besitzen, macht die Annahme einer prädeterminativen Wirkung des Standardallels unwahrscheinlich. Wenn man aber trotzdem von einer prädeterminativen Wirkung des Standardallels sprechen wollte, so wäre dies nur in folgendem Sinne möglich: Homozygot oder in der heterozygoten Kombination r^+r in grauen Muttertieren vorhanden, gestattet es den beiden anderen Allelen r und R^2 sowie den übrigen noch nicht näher analysierten Realisatoren an der Geschlechtsbestimmung mitzuwirken, wobei es gleichgültig bleibt, ob dieselben mütterlicher oder väterlicher Herkunft sind. Außerdem ist es nicht ausgeschlossen, daß es gleichzeitig die Allele r und R^2 in geringem Maße daran hindert, ihre normale geschlechtsbeeinflussende Wirkung voll zu entfalten. Zumindest wird eine an sich mögliche prädeterminierende Wirkung des r-Allels in heterozygoten r^+r-Muttertieren offenbar mehr oder weniger vollständig unterdrückt, wie das nach den Dominanzverhältnissen von vornherein erwartet werden kann. — Eine solche Wirkungsweise reicht aber keinesfalls aus, um dem r^+-Allel eine — wenn auch nur relative — geschlechtsrealisierende Wirkung zuzusprechen, wie sie für die beiden anderen Glieder der r-Serie außer Frage steht. Dem Stan-

dardallel r^+ kommt also offensichtlich auch im Hinblick auf eine Prädetermination des Geschlechtes keine nennenswerte Realisatorwirkung zu.

Es sei nun nochmals auf die eingangs (vgl. S. 317) bereits beschriebene, in Tabelle 25 aufgestellte Reihe der Muttertiere eingegangen. Für einige der dort aufgeführten Kombinationen konnte also mit Sicherheit nachgewiesen werden, daß die dazugehörigen aberranten Geschlechtsverhältnisse vorwiegend durch prädeterminative Genwirkung zustande kommen. Angesichts dieser Tatsache erscheint es nun gerechtfertigt, auch für die übrigen Kombinationen eine solche Wirkung anzunehmen, wenn sie im einzelnen auch nicht nachgewiesen werden kann. Dies ist um so mehr der Fall, als gerade die Reihe der Muttertiere eine durchgehende Kontinuität besitzt, in der die roten ♀♀ um etwa 97 ♂♂-% und die braunen um etwa 75♂♂-% konzentriert sind.

Bei den Vatertieren läßt sich hingegen keine bestimmte Reihenfolge auffinden. Aus diesem Grunde könnte sogar die Frage aufgeworfen werden, ob den vom Vatertier stammenden Allelen überhaupt eine Bedeutung hinsichtlich der Geschlechtsrealisation zukomme. Dennoch zeigt sich bei der nun folgenden genaueren Analyse, daß auch die Allele des Vatertieres — wenn auch in weit geringerem Maße als die des Muttertieres — an der Geschlechtsbestimmung der F_1 beteiligt sind. Insgesamt gesehen ist deswegen das ♂ natürlich nicht weniger wichtig als das ♀, da seine Allele wiederum maßgeblich in die Geschlechtsbestimmung der Enkelgeneration eingreifen. — Von einer prädeterminativen Wirkung der vom Vatertier stammenden Allele kann allerdings nicht die Rede sein.

Daneben bedarf diese Frage aber noch einer Erörterung. Das unterschiedliche Geschlechtsverhältnis bei den roten (*rr*) Tieren, die den Kreuzungskombinationen $r^+r \times rr$ (48,63 ♂♂-%) und $r^+r \times r^+r$ (76,55 ♂♂-%) entstammen, könnte nämlich unter Umständen zu der Annahme verleiten, daß auch das Vatertier eine prädeterminative Wirkung ausüben kann. Dies ist besonders naheliegend, weil die Muttertiere ja in beiden Fällen die genetische Konstitution r^+r besitzen, und die *r*-Spermien von *rr*-Vatertieren sich von *r*-Spermien aus r^+r-Vatertieren hinsichtlich der geschlechtsbeeinflussenden Wirkung ihres *r*-Allels nicht unterscheiden sollten. Diese Fälle, deren Deutung anfänglich große Schwierigkeiten bereitete, finden jedoch eine ganz andere zwanglose Erklärung (vgl. S. 321).

b) Wenn auch das Geschlecht der Jungtiere nach den bisher gedeuteten Befunden im großen und ganzen progam durch den Genotyp des Muttertieres festgelegt ist, so vermögen dennoch die Allele des Jungtieres selbst und damit neben den mütterlichen auch diejenigen, die vom Vatertier stammen, an der Geschlechtsbestimmung mitzuwirken. Dies zu erkennen, sind alle spaltenden Kreuzungskombinationen geeignet, da in deren Farbklassen unterschiedliche Männchenindices auftreten. In Tabelle 26 sind diesbezüglich die Ergebnisse aus allen Elternkombinationen mit Mendelspaltung zusammengestellt. Die Farbklasse mit dem jeweils kleineren Männchenindex ist vor der Farbklasse mit dem größeren Wert aufgeführt.

Läßt man die letzte Kombination $r^+r \times rr$ zunächst unberücksichtigt (vgl. S. 321) und betrachtet in der Kombination $r^+r \times R^2r$ und reziprok die beiden Farbklassen R^2 und *rr* gemeinsam gegenüber der Farbklasse r^+, so ist folgende Gesetzmäßigkeit zu erkennen[1]:

[1] Die kleine Unstimmigkeit, die in dieser Hinsicht zwischen der roten (*rr*) und braunen (R^2) Farbklasse in den beiden reziproken Kreuzungskombinationen $r^+r \times R^2r$ besteht, ist zu geringfügig, als daß sie näher besprochen werden müßte.

1. Die graue (r^+) Farbklasse besitzt stets einen kleineren Männchenindex als die dazugehörige rote (rr) oder braune (R^2) Farbklasse.

2. Die braune (R^2) Farbklasse besitzt stets einen kleineren Männchenindex als die dazugehörige rote (rr) Farbklasse, aber einen größeren Männchenindex als die dazugehörige graue (r^+) Farbklasse.

3. Die rote (rr) Farbklasse besitzt in allen Fällen den größeren Männchenindex.

Da nun für die beiden Farbklassen einer spaltenden Nachkommenschaft natürlich die gleichen prädeterminierenden Wirkungen gelten, muß aus den unterschiedlichen Geschlechtsverhältnissen beider Gruppen geschlossen werden, daß

Tabelle 26. *Vergleich der Männchenindices in den F_1-Farbklassen spaltender Elternkombinationen*

Elternkombinationen		Farbklassen mit niederem Männchenindex/F_1		Farbklassen mit höherem Männchenindex/F_1	
♀♀ × ♂♂	♂♂-%	Genotyp	♂♂-%	Genotyp	♂♂-%
$rr \times r^+r$	94,48	r^+r	89,33	rr	98,87
$R^2R \times R^2R$	92,67	R^2	92,15	rr	94,28
$R^2r \times rr$ u. rez.	91,55	R^2r	87,92	rr	95,24
$R^2r^+ \times rr$	79,12	r^+r	68,18	R^2r	82,98
$r^+r \times R^2r^+$ u. rez.	76,63	r^+	78,57	R^2	79,76
$R^2r^+ \times R^2r^+$	72,29	r^+r^+	48,05	R^2	76,78
$r^+r \times R^2r$ u. rez.	66,47	r^+r	56,52	R^2	71,17
				rr	69,14
$r^+r \times r^+r$	60,82	r^+	55,25	rr	76,55
$r^+r^+ \times R^2r^+$	37,74	r^+r^+	25,20	R^2r^+	43,08
$r^+r \times rr$	51,46	rr	48,63	r^+r	54,10

auch die den Genotyp des Jungtieres bedingenden Farballele in die Geschlechtsbestimmung eingreifen. Dabei entfaltet das Allel r die relativ stärkste männlichbestimmende Wirkung, wie das auch den bisherigen Erfahrungen entspricht. Dem Allel R^2 kommt eine weniger stark männlich beeinflussende Wirkung zu. — Während an der geschlechtsbeeinflussenden Wirkung der Allele R^2 und r kein Zweifel bestehen kann, ist eine solche des Standardallels auch hier wieder nicht nachweisbar, darüber hinaus sogar fragwürdig. Zwar könnten auch hier wieder (vgl. S. 317) die oft sehr niedrigen Männchenindices in allen aus r^+-Tieren bestehenden Gruppen zur Annahme einer weiblich orientierten Wirkung des Standardallels verleiten. Aber auch diese niedrigen Werte kommen sicherlich alle auf ganz andere Weise zustande (s. S. 323).

Wenn also auch hier der Einfluß des Standardallels r^+ auf die Geschlechtsbestimmung definiert werden soll, so kann es wiederum nur in folgendem bereits grob umrissenen Sinne (vgl. S. 317ff.) geschehen: Das Standardallel gibt den Allelen R^2 und r sowie allen sonst noch an der Geschlechtsbestimmung mitwirkenden Faktoren oder Faktorenkonstellationen die Möglichkeit, ihren Einfluß zu entfalten, ohne dabei selbst nachweisbar aktiv in die Geschlechtsbestimmung einzugreifen. Möglicherweise übt es in r^+r-Tieren eine hemmende Wirkung auf das männlich beeinflussende r-Allel aus, wie es auch nach den Dominanzverhältnissen erwartet werden darf.

In diesem Zusammenhang muß noch erwähnt werden, daß der relativ niedrige Männchenindex in der roten Farbklasse aus der Kombination $r^+r \times r^+r$ (76,55 ♂♂-%) nur dadurch zustande gekommen sein mag, daß das allein stark männlich beeinflussende *r*-Allel möglicherweise durch das mütterliche Allel r^+ auf prädeterminativem Wege gehemmt wurde. Von dem Allel r^+ väterlicher Herkunft kann eine solche Wirkung unmöglich angenommen werden.

Zusammenfassend läßt sich die Wirkungsintensität der verschiedenen *r*-Allele als relative männliche Geschlechtsrealisatoren ganz generell folgendermaßen darstellen:

$$r > R^2 > r^+$$

Eine Beziehung zu der Dominanz als Farballele $R^2 > r^+ > r$ besteht offensichtlich nicht. Nichtsdestoweniger ist aber das den Phänotyp des Muttertieres bedingende Farballel im großen und ganzen ausschlaggebend für das Geschlechtsverhältnis einer Nachkommenschaft. Aus all diesen Ergebnissen wird nun auch verständlich, daß Vatertier und Muttertier einen ungleich großen Einfluß auf die Geschlechtsrealisation ihrer Nachkommen ausüben, wie es eingangs bereits festgestellt wurde (vgl. S. 316).

2. Weitere das Geschlecht beeinflussende Erbfaktoren oder Faktorenkonstellationen. Schon die Tatsache, daß in Zuchten aus oberirdisch lebenden Populationen (Rheingoldruhe, Gonsenheim, Godramstein/Pfalz, Siebeldingen/Pfalz), die wohl samt und sonders homozygot für das r^+-Allel sind, erblich bedingte Männchenindices von 0—100% beobachtet wurden (unveröffentlicht), zeigt mit aller Deutlichkeit, daß die Farballele nicht allein die Geschlechtsbestimmung kontrollieren, sondern daß sie lediglich ein an sich vorhandenes Realisatorensystem, das als das ursprüngliche und normale anzusehen ist, epistatisch überlagern. Auch die z. T. sehr große Variabilität der Männchenindices in Zuchten von *G. pulex* ssp. *subterraneus*, in denen graue Muttertiere verwendet wurden, weist auf die Existenz solcher Realisatoren hin. Besonders sind es aber die beiden Kreuzungskombinationen $r^+r \times r^+r$ (Tabelle 22) und $r^+r \times rr$ (Tabelle 17), deren scheinbar widerspruchsvolle Ergebnisse in der roten (*rr*) Farbklasse sich bisher jeder Deutung entzogen haben, die aber unter Heranziehung dieses Realisatorensystems ganz zwanglos erklärt werden können.

In der Kombination $r^+r \times r^+r$ beträgt der Männchenindex dieser Farbklasse bei relativ einheitlichen Einzelwerten 76,55%. Dagegen besitzt die rote (*rr*) Farbklasse in der Kombination $r^+r \times rr$ den entgegen allen Erwartungen stark abweichenden Wert von 48,63 ♂♂-%, der sich aus sehr heterogenen Einzelwerten von 8,33 bis zu 100 ♂♂-% zusammensetzt, der aber kaum von dem der Farbklasse r^+r (54,10 ♂♂-%) und dem der Gesamtzahl (51,46 ♂♂-%) abweicht.

Aus den sonst übereinstimmenden, in der roten Farbklasse aber unterschiedlichen Ergebnissen in den beiden Kreuzungskombinationen geht nun hervor, daß die Ursache dieser Abweichungen ausschließlich in der genetischen Natur der *r*-Spermien von r^+r-Vatertieren einerseits und *rr*-Vatertieren andererseits zu suchen ist. Da dem Allel *r* sonst allgemein eine stark vermännlichende Wirkung zukommt, die sich im großen und ganzen auch in der Kombination $r^+r \times r^+r$ bei der roten (*rr*) Farbklasse durchsetzt, so müssen die *r*-Gameten der roten (*rr*) Vatertiere im Gegensatz zu denen der grauen r^+r-Vatertiere trotz gleicher geschlechtsbeeinflussender Wirkung ihres *r*-Allels in Hinblick auf die übrigen das

Geschlecht beeinflussenden Faktoren ein ausgesprochen inhomogenes Material darstellen. Der Beweis hierfür kann leicht dadurch erbracht werden, daß bestimmte r^+-Muttertiere, die nacheinander mit mehreren Geschwistermännchen aus einer r-Reinzucht angepaart wurden, sowohl männchenreiche als auch weibchenreiche Nachkommenschaften ergaben. Homozygote rr-♂♂ besitzen also trotz des gleichartigen in männlicher Richtung wirksamen Einflusses des Allels r weitere Realisatoren oder Realisatorkombinationen, die im ganzen mehr männlich oder mehr weiblich orientiert sein können. Dies ist vornehmlich bei rr-♂♂ der Fall, die aus r-Reinzuchten oder aus Kreuzungskombinationen mit roten (rr) Muttertieren hervorgegangen sind. Unter solchen rr-♂♂ befinden sich immer mit großer Sicherheit Tiere, die eigentlich nach ihrer übrigen Realisatorkonstellation hätten zu ♀♀ werden sollen, und die nur dank der Einwirkung des rr-Genotypes zu ♂♂ determiniert wurden. Im Durchschnitt wird man damit rechnen können, daß ungefähr die Hälfte aller solcher rr-♂♂ realiter aus auf diese Weise maskulinisierten ♀♀ besteht. Werden solche ♂♂ mit normalen r^+-♀♀ angepaart, dann entspricht dies — wenn man die Geschlechtsrealisatoren betrachtet — eigentlich einer ♀× ♀-Paarung, und es ist nur zu verständlich, daß aus solchen Kombinationen dann, wenn die männlich beeinflussende Wirkung des r-Allels wegfällt, ungewöhnlich weibchenreiche Nachkommenschaften hervorgehen (z. B. Nr. 304, Tabelle 17). Es liegt also in der Natur des stark vermännlichenden r-Allels begründet, daß gerade die rr-♂♂ in ihrer gesamten übrigen Realisatorenkonstellation besonders inhomogen sind. — Im Falle hoher Männchenindices, die gleichfalls in dieser Kombination vorkommen, muß dann umgekehrt die Realisatorenkonstellation wenigstens der Vatertiere männchenbestimmend gewesen sein.

Durch die sehr niedrigen Männchenindices in der Kombination $r^+r \times rr$ wird zugleich ein Hinweis dafür gegeben, daß in allen Kreuzungskombinationen mit rr- und ebenso mit R^2R^2-Vatertieren gleichfalls vielfach sehr hohe ♀♀-Raten erwartet werden können. Ganz allgemein gesagt, können — so absurd das im ersten Augenblick auch klingen mag — extrem weibchenreiche Nachkommenschaften vor allem aus Paarungen erwartet werden, deren Vatertiere Zuchten entstammen, die — durch die Allele r und R^2 bedingt — extrem männchenreich waren.

Unter diesen Voraussetzungen können nun viele weitere bisher noch ungeklärte Ergebnisse zwanglos gedeutet werden. Die sehr große Variabilität der Männchenprozente in den Kreuzungskombinationen $r^+r \times rr$ und $r^+r^+ \times rr$, wie überhaupt die vielfach große Streuung in Kombinationen mit grauen r^+-Muttertieren kommt sicherlich auf diese Weise zustande. Auch die extrem weibchenreiche Zucht 632 (32 ♀♀ : 3 ♂♂ = 8,57 ♂♂-%) stellt aller Wahrscheinlichkeit nach in der sonst männchenreichen Kreuzungskombination $R^2R^2 \times rr$ (Tabelle 9) gar keine Ausnahme dar, sondern ist nur die natürliche Folge der Paarung eines R^2-Muttertieres mit überwiegend weiblich orientierter Faktorenkonstellation mit einem ebenfalls stark weiblich orientierten rr-Vatertier.

Es könnten in diesem Zusammenhang noch zahlreiche ähnlich gelagerte Beispiele aus den Tabellen angeführt werden, die unter den hier gegebenen Voraussetzungen vermutlich schon befriedigend gedeutet werden können. Zum vollen Verständnis der hier zu besprechenden Faktoren sind aber noch einige Ausführungen notwendig, die im Zusammenhang mit dem Vergleich der roten Farbklasse aus den beiden $r^+r \times rr$- und $r^+r \times r^+r$-Kombinationen erörtert werden sollen.

Gegenüber den z. T. äußerst heterogenen Realisatorkonstellationen der *rr*-Vatertiere sind die r^+r-Muttertiere und auch r^+r-Vatertiere in ihren geschlechtsrealisierenden Potenzen weit besser ausbalanciert. Von den r^+r-Muttertieren kann angenommen werden, daß ihre Realisatorenkombination im ganzen vorwiegend weiblich orientiert ist, und zwar mindestens in einem solchen Ausmaß, daß die vermännlichende Wirkung des heterozygot in ihnen vorhandenen *r*-Allels, sowie die möglicherweise ebenfalls noch vorhandenen — allerdings im einzelnen nicht analysierbaren — relativen M-Realisatoren nicht zur Geltung kommen. Demgegenüber kann von den r^+r-Vatertieren ebenso angenommen werden, daß deren geschlechtsrealisierende Faktoren in ihrer Gesamtheit vorwiegend männlich orientiert sind. Zwar können auch unter den r^+r-♂♂ Tiere mit einer vorherrschend weiblich orientierten Realisatorenkonstellation vorkommen. Dies dürfte aber nur dann der Fall sein, wenn es sich dabei um Nachkommen roter (*rr*) Muttertiere handelt. Derartige ♂♂ sind indessen — im Gegensatz zu den *rr*-Vatertieren, die in den allermeisten Fällen aus *r*-Reinzuchten hervorgingen — in diesen Paarungen nicht als Vatertiere verwendet worden.

Nach alledem bleibt nur noch ein letzter Befund zu deuten. Überblickt man nämlich die Reihenfolge der Kreuzungskombinationen in Tabelle 25, so ist eine Korrelation zwischen niedrigen Männchenindices und dem Standardallel r^+ unverkennbar, so daß sofort an einen verweiblichenden Einfluß des Standardallels gedacht werden kann. Demgegenüber mußte aber bei der Analyse der relativen geschlechtsrealisierenden Wirkung der Allele *r* und R^2 stets festgestellt werden, daß dem Standardallel eigentlich durchweg nur eine passive Rolle im Geschlechtsbestimmungsgeschehen zukommt. Es stehen sich also zwei einander zunächst widersprechende Ergebnisse gegenüber. Diese Unstimmigkeit ist indessen nur eine scheinbare.

Bedenkt man nämlich, daß ja nicht nur die speziell untersuchten Farbfaktoren an der Geschlechtsbestimmung beteiligt sind, sondern ebenso noch der gesamte Komplex eines polyfaktoriellen Realisatorensystems, so kann z. B. der Weibchenreichtum der r^+-Reinzuchten leicht gedeutet werden, ohne daß dem Standardallel eine verweiblichende Rolle zugesprochen wird.

Es sei daher von einer Population ohne die beiden mutanten Allele R^2 und *r* ausgegangen, in der auch kein anderes Gen eine vorherrschende Stellung in der Geschlechtsrealisation einnähme, so daß die Geschlechtsbestimmung allein durch ein polyfaktorielles Realisatorensystem vollzogen wird. Im Idealfall würde eine solche Population Männchenindices von 0—100% ergeben, wie es auch tatsächlich in der Population Rheingoldruhe etwa realisiert ist.

Das Auftreten der beiden Farballele R^2 und *r* in einer solchen Population würde nun einfach bewirken, daß die Mehrzahl der von ihnen beeinflußten Nachkommenschaften stark zur männlichen Seite hin verschoben wird. Die natürliche Folge davon ist, daß sich die F-Realisatoren des restlichen Geschlechtsbestimmungskomplexes auf rein selektiver Basis sowohl bei den roten und braunen Formen als auch bei den r^+r^+-Tieren sehr stark anreichern, während umgekehrt die M-Realisatoren weitgehend zurückgedrängt werden. Es muß daher damit gerechnet werden, daß immer dann, wenn die Rot-Allele ausfallen, im allgemeinen ein relativ sehr hoher Prozentsatz von weibchenreichen Zuchten auftritt.

Die unverkennbare Korrelation zwischen weibchenreichen Zuchten und dem Standardallel r^+ (Tabelle 25) ist daher wohl mit Sicherheit auf diesen an sich ganz selbstverständlichen Selektionsvorgang zurückzuführen. Das r^+-Allel spielt auch hier wiederum eine passive Rolle, indem es nur die ungehemmte Manifestation des im ganzen Stamm durchweg vorhandenen starken F-Realisatorkomplexes gestattet.

Die Deutung der Befunde erscheint hiermit zunächst abgeschlossen. Es zeigt sich, daß nahezu alle Ergebnisse leicht und zwanglos erklärt werden können, wenn die stark vermännlichende, vor allem prädeterminativ vererbte Wirkung der Rot-Allele r und R^2 mit einem polyfaktoriellen System von relativen M- und F-Realisatoren zusammenwirken. Ein solches System ist zwar noch nicht exakt analysiert, aber an seiner Existenz kann nicht mehr gezweifelt werden. In diesem Zusammenhang muß noch kurz zu den aberranten Geschlechtsverhältnissen in den Wildpopulationen „Gonsenheim-Bahndamm" und „Ernst-August-Stollen" Stellung genommen werden.

Die Population „Ernst-August-Stollen" zeichnet sich durch außerordentlichen Männchenreichtum aus (vgl. S. 293 und Tabelle 2). Schon allein die Tatsache, daß hier die Allele R^2 und r ganz vorherrschend auftreten (ANDERS 1956 a und b), genügt völlig, um das beobachtete Geschlechtsverhältnis von nahezu 1 ♀ : 6 ♂♂ verständlich zu machen. Auch die relativ dünne Besiedlung des ausgedehnten Biotops dürfte zum großen Teil auf dieses unvorteilhafte Geschlechtsverhältnis in dieser Population zurückzuführen sein.

Die Ursachen des Weibchenreichtums der Population „Gonsenheim-Bahndamm" sind vorerst noch ungeklärt, dürften aber wahrscheinlich in einer starken Anhäufung weiblich orientierter Realisatoren zu suchen sein.

IV. Zur Prädetermination von Pigmentierung und Geschlecht

Die gleichsinnige Prädetermination von Pigmentierung und Geschlecht verdient nun noch eine etwas eingehendere Besprechung, da sich von hier aus vielleicht Ansatzpunkte für einen tieferen Einblick in die genphysiologischen Ursachen der Geschlechtsbeeinflussung ergeben könnten.

Wegen des extremen Verhaltens ist die völlig gleichsinnige Wirkung des r-Allels in reinerbig roten rr-Muttertieren am auffälligsten. r^+-Nachkommen solcher roter rr-♀♀ sind, unabhängig von ihrer eigenen genetischen Konstitution, bis zu einem unbestimmten Zeitpunkt stets rot gefärbt wie ihre Mütter (ANDERS 1956a). Darüber hinaus ist aber auch das Geschlecht dieser anfänglich roten r^+r-Jungtiere — obwohl sich in diesen das eigene r-Allel gar nicht zu manifestieren vermag und sie außerdem sogar oft eine ausgesprochen weiblich orientierte Faktorenkonstellation besitzen — fast immer rein oder doch vorwiegend männlich, wie es auch für echte rr-Tiere im allgemeinen charakteristisch ist. Während sich nun später die zunächst prädeterminativ rot gefärbten r^+r-Jungtiere hinsichtlich der Pigmentierung dem mütterlichen Einfluß entziehen und sich r^+-gemäß grau ausfärben, erfolgt ein solcher Umschlag hinsichtlich der Geschlechtsbestimmung offensichtlich nicht. Das Geschlecht dieser prädeterminativ rot gefärbten r^+r-Jungtiere muß also offenbar schon vor dem Zeitpunkt der Umfärbung durch die prädeterminierenden Agentien endgültig determiniert worden sein. Die prädeterminative Vererbung von Farbe und Geschlecht verhält sich also zwar grundsätzlich übereinstimmend, jedoch mit dem Unterschied, daß die Beeinflussung der Pigmentierung reversibel, diejenige des Geschlechts aber irreversibel ist.

Dasselbe läßt sich im Hinblick auf das weniger stark vermännlichende Allel R^2 feststellen.

Beim Standardallel liegen die Dinge etwas unübersichtlicher, wenn auch prinzipiell gleichartig. Der prädeterminative Erbgang der grauen Pigmentierung der

r^+-Tiere entspricht im allgemeinen dem der roten (*rr*) und der braunen (R^2) Tiere. Für das Allel *r* homozygote Nachkommen grauer r^+r-Muttertiere sind also bis zu einem unbestimmten Zeitpunkt r^+-gemäß grau pigmentiert und nehmen erst später ihre zu erwartende rote Färbung an. Hinsichtlich des Geschlechts verhalten sich nun diese *rr*-Tiere auffallenderweise zumeist auch entsprechend der grauen r^+-Farbklasse, deren Färbung sie ja in der ersten Jugend tragen. Das heißt also, daß dem homozygot vorhandenen *r*-Allel durch die prädeterminative Wirkung des Standardallels r^+ anfänglich nicht die Möglichkeit gegeben ist, seine charakteristische Wirkung auf Färbung und Geschlecht zu entfalten. Wenn die homozygote *rr*-Kombination dann später die Umfärbung des Tieres bewirkt, ist das Geschlecht bereits offenbar unter den für graue Färbung charakteristischen Voraussetzungen (d. h. Zulassung der Normal-Realisatoren, verbunden mit Hemmung der Rot-Allele) bereits endgültig determiniert. So wird auch diese im Vererbungsexperiment nicht exakt faßbare, den Einfluß der *r*- und R^2-Allele aber prädeterminativ hemmende Wirkung des sonst das Geschlechtsverhältnis nicht beeinflussenden Standardallels r^+ ohne weiteres verständlich.

Wenn auch der direkte Nachweis vorerst noch aussteht, so ist doch als wahrscheinlich anzunehmen, daß die prädeterminative Beeinflussung der Pigmentierung wohl auf einer direkten Übertragung mütterlicher Farbstoffe auf die Eier, und damit auf die Jungtiere, beruht. Im Jungtier würde dann der mütterliche Pigmentbildungsvorgang noch auf einige Zeit gleichsinnig weiterlaufen. Da nun die Prädetermination von Pigmentierung und Geschlecht grundsätzlich in gleicher Richtung verläuft, kann auch weiterhin vermutet werden, daß es möglicherweise die vom Muttertier her übertragenen Carotinoide selbst sind, die ebenso wie die Pigmentierung auch das Geschlecht der Jungtiere beeinflussen.

Nach alledem sollten nun auch Versuche, den Entscheid über das Geschlecht experimentell zu beeinflussen, erfolgversprechend sein. Diese, vor allem umfangreiche Fütterungsversuche mit carotinoidreicher bzw. -armer Nahrung (40 Zuchten), verliefen allerdings bisher negativ.

F. Diskussion

Es sollen nun noch die folgenden 2 Fragenkomplexe untersucht werden: 1. Was wissen wir über die Geschlechtsbestimmung anderer Amphipoden? 2. Bei welchen Organismen lassen sich Parallelen zum Geschlechtsbestimmungsmodus von *Gammarus pulex* auffinden?

1. Wie bereits erwähnt, wurde in cytologischen Untersuchungen an einer ganzen Reihe von Amphipoden (*Gammarus locusta*, *G. chevreuxi*, *G. marinus*, *G. duebeni*, *G. pungens*, *Orchestia gammarella*, *Talorchestia deshaysei*, *Maera othonis*, *M. grossimana*, *Metacrangonyx longipes* u. a.) ebenso wie bei *Gammarus pulex* in keinem Falle ein Hinweis für das Vorhandensein von Heterochromosomen gefunden (Poisson und Le Calvez 1948; Le Calvez und Certain 1951), so daß auch diese Untersuchungen einen wichtigen Hinweis dafür geben, daß womöglich viele, wenn nicht gar alle Amphipoden einen Geschlechtsbestimmungsmodus besitzen, der dem des *Gammarus pulex* ähnlich ist. Abgesehen von diesen cytologischen Befunden liegen nur wenige Angaben über die Geschlechtsbestimmung bei Amphipoden vor.

So berichtet Taliew (1949) über bestimmte Populationen von *Macrohectopus branickii* aus dem Baikalsee, die vorwiegend aus ♀♀ bestehen sollen, ohne daß eine größere Sterblichkeit der männlichen Individuen beobachtet wurde.

Etwas nähere Angaben können aus der Erbanalyse von *Gammarus chevreuxi* (Sexton 1912—1936), entnommen werden. Da sich Sexton aber nicht speziell

mit der Geschlechtsbestimmung ihres Versuchsobjektes befaßt hat, erschöpfen sich ihre Angaben über das Geschlechtsverhältnis einzelner Zuchten zumeist in sporadischen Bemerkungen wie „all males" oder „all females".

Speziell mit der Geschlechtsbestimmung von *Gammarus duebeni* hat sich KINNE (1952) befaßt und dabei folgendes beobachtet: Muttertiere, die bei Temperaturen unter 5° C gehalten wurden, brachten fast ausschließlich männliche Nachkommen hervor. Umgekehrt waren die Nachkommen von Muttertieren, die bei Temperaturen von über 6° C gehalten wurden, fast ausschließlich ♀♀. Muttertiere, die im kritischen Temperaturbereich von 5—6° C gezüchtet wurden, hatten sowohl männliche als auch weibliche Nachkommen.

In einer späteren Arbeit berichtet dann KINNE (1953) von 2 Paarungen, die es sehr wahrscheinlich machen, daß auch die Temperatur, bei der das Vatertier lebt, für das zukünftige Geschlecht der Jungtiere von Bedeutung ist.

Wenn auch KINNE — wohl in Anbetracht seines nicht sehr umfangreichen Tiermaterials — jeden Versuch einer näheren Deutung seiner Befunde unterläßt, so sprechen diese doch ganz entschieden gegen das Vorhandensein eines Heterochromosomenmechanismus. Sie sprechen aber auch ebenso eindeutig gegen eine ausschließlich durch Umweltbedingungen modifikatorisch bedingte Geschlechtsbestimmung. Zwar scheint der über Muttertier und unbefruchtete Eizellen auf das Geschlecht der Jungtiere wirkende Temperatureinfluß recht überzeugend; wie jedoch ein ebensolcher Einfluß über das Vatertier und die Spermien wirksam sein soll, ist nur schwer vorstellbar. So kann man sich nur schwer der Vermutung erwehren, daß möglicherweise auch bei *Gammarus duebeni* weiblich und männlich orientierte Realisatorkonstellationen neben den experimentell durch KINNE sichergestellten Umweltfaktoren an der Geschlechtsbestimmung beteiligt sein könnten. Ehe man jedoch hier zu einem abschließenden Urteil kommen wollte, müssen erst weitere Versuche zur modifikatorischen Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses an einem erblich geprüften Material durchgeführt werden. Die entsprechenden, von mir an *Gammarus pulex* durchgeführten Untersuchungen (seit 1955) lassen jedoch bisher keinen ersichtlichen Einfluß der Temperatur (und anderer Umweltbedingungen) erkennen.

2. Die auffallendste Parallelerscheinung zur Geschlechtsbestimmung von *Gammarus pulex* findet sich bei den Isopoden. Diese Tiergruppe scheint nach langjährigen Analysen durch HOWARD, VANDEL und besonders durch DE LATTIN ganz allgemein aberrante Geschlechtsverhältnisse zu besitzen. Für die vorliegende Arbeit verdienen aber besonders die von DE LATTIN (1951) an den Landisopoden *Porcellio scaber*, *Tracheoniscus rathkii* und *Tracheoniscus bosporanus* erzielten Ergebnisse Beachtung. DE LATTIN fand dabei folgendes:

Bei allen 3 genannten Landasseln kommt je ein dominanter autosomaler Farbfaktor vor, der dem Körper der Tiere ein marmoriertes Aussehen verleiht. — Ähnlich wie bei *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* bedingen diese Faktoren nun nicht nur eine veränderte Körperfärbung, sondern außerdem noch eine starke Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses. Sie erhöhen die Weibchenhäufigkeit gegenüber der einfarbig dunklen Standardgruppe. Dabei muß als sehr wesentlich herausgestellt werden, daß man hier, unabhängig von dem Marmorierungsfaktor, sowohl männchenreiche als auch weibchenreiche Stämme züchten kann. Die prinzipielle Übereinstimmung des Geschlechtsbestimmungsmodus dieser 3 Isopoden mit *Gammarus pulex* ist auffallend. Ein geringfügiger Unterschied besteht allerdings insofern, als die Farbfaktoren des *Gammarus pulex* als relative männliche und diejenigen von *Porcellio* und *Tracheoniscus* als relative weibliche Geschlechtsrealisatoren wirksam sind. Daß die Körperpigmente der genannten

Asseln aus Ommochromen (Becker 1942) und diejenigen von *Gammarus* aus Carotinoiden bestehen, ist für die grundsätzliche Diskussion relativ belanglos. Allerdings mahnt diese Tatsache zur Vorsicht für genphysiologische Überlegungen, wenn im Falle des *Gammarus pulex* versucht wurde, möglicherweise den carotinoiden Farbstoffen allein die geschlechtsbeeinflussende Wirkung zuzuschreiben, während de Lattin im Falle der Asseln an die gleiche, möglicherweise durch die Ommochrome der Körperfarbe bedingte Wirkung denkt.

Weitere Untersuchungen an Landisopoden *(Cylisticus convexus, Trichoniscus provisorius, Armadillidium vulgare, Chaetophiloscia sicula, Metoponorthus pruinosus, Porcellio laevis, Haplophthalmus danicus, Chaetophiloscia elongata)* durch Vandel, de Lattin und Howard erbrachten ebenso wie die Untersuchungen von de Lattins Schülerin Seitz (Diss. Mainz 1955) an *Asellus aquaticus* prinzipiell immer wieder die gleichen Ergebnisse, wenn auch im einzelnen keine bestimmten geschlechtsbeeinflussenden Faktoren analysiert werden konnten. Alle diese Tiere besitzen keinen Heterosomenmechanismus, sondern sind teils erwiesenermaßen, teils mit großer Wahrscheinlichkeit polyfaktoriell geschlechtsbestimmt.

Daneben bedarf jedoch die Frage, ob die von de Lattin untersuchten Isopoden wirklich durch autosomale Gene polyfaktoriell geschlechtsbestimmt sind, einer weiteren Erörterung, zumal erst kürzlich die von diesem Autor erhobenen Befunde durch Hartmann (1956) und Wiese (1956) formal anders gedeutet worden sind. Hartmann sowie insbesondere auch Wiese stimmen de Lattin insofern zu, als die Geschlechtsbestimmung dieser Isopoden nicht durch irgendeine Modifikation eines Homo-Heterozygotie-Mechanismus erklärt werden kann. Sie sind jedoch der Meinung, daß die Befunde am einfachsten und besten durch eine rein modifikatorische Geschlechtsbestimmung gedeutet werden können, wenn man diese Isopoden als Subdiözisten auffaßt. Parallelen hierzu ergäben sich bei gut analysierten subdiözischen Blütenpflanzen, wie etwa bei *Melandrium* oder beim Hanf. Abgesehen davon, daß diejenigen Autoren, die sich in neuerer Zeit wohl am eingehendsten mit der Geschlechtsbestimmung dieser Phanerogamen befaßt haben, Westergaard (*Melandrium*) und Hoffmann (*Cannabis*), einen komplizierteren Modus annehmen, bliebe für die Landasseln dann immer noch zu erklären, worauf die Tatsache beruhen solle, daß erblich bedingte männchen- und weibchenreiche Stämme isoliert werden können. Die weite Fassung des Begriffes der modifikatorischen Geschlechtsbestimmung, die Wiese für alle Fälle gelten läßt, „wo die Geschlechtsbestimmung unabhängig von Befruchtung und Reduktion erfolgt", hilft nicht über die Tatsache hinweg, daß die unterschiedlichen Geschlechtsverhältnisse der Zuchten und Stämme genetisch bedingt sind und auch vererbt werden. Es bleibt demnach vorerst bezüglich der untersuchten Isopoden keine andere Wahl, als die modifikatorische Geschlechtsbestimmung zugunsten einer autosomal polyfaktoriellen abzulehnen.

Eine weitere Parallelerscheinung zum Geschlechtsbestimmungsmodus von *Gammarus* und den genannten Isopoden findet sich bei gewissen Zahnkarpfenarten aus den Gattungen *Platypoecilus, Xiphophorus* und *Limia* sowie deren Art- und Gattungsbastarden, an denen Kosswig (1930ff.) und Breider (1935ff.) die Theorie der polyfaktoriellen Geschlechtsbestimmung erarbeitet haben. Die Übereinstimmungen und Unterschiede zwischen der geschlechtsbestimmenden Wirkung der Farballele bei den Landasseln und derjenigen der Zahnkarpfen wurden bereits von de Lattin (1951) herausgestellt. Sie treffen ganz allgemein auch für die Farballele von *Gammarus pulex* einerseits und für die der Zahnkarpfen andererseits zu, so daß insgesamt folgendes hierüber festgestellt werden kann: In allen 3 Fällen greifen Farbfaktoren, die autosomal liegen (*Gammarus, Isopoden*) oder wenigstens autosomalen Charakter tragen (Zahnkarpfen bzw. deren Bastarde) in

ein polyfaktorielles System geschlechtsbestimmender Gene als relative Geschlechtsrealisatoren ein.

Es sei nun noch die Frage aufgeworfen, ob eine derartige polyfaktorielle Geschlechtsbestimmung ein Ausnahmemodus ist, der außer bei den näher untersuchten Zahnkarpfen, den Asseln und *Gammarus pulex* eine ungewöhnliche Erscheinung darstellt. Das ist nicht der Fall. Wie die Untersuchungen von HOFFMANN (1947ff.) am Hanf, ZOSCHKE (1956) am Spinat und die von BREIDER und SCHEU (1938) an bestimmten Vitis-Arten zeigen, ist mit dem Vorkommen einer polyfaktoriellen Geschlechtsbestimmung auch bei pflanzlichen Organismen zu rechnen. Besonders aber bei den niederen Wirbellosen scheint dieser Modus — vielleicht in Verbindung mit einer teilweise modifikatorischen Geschlechtsbestimmung — nach den Untersuchungen von BACCI (1947ff.) sowie MONTALENTI (1949ff.) an *Ophryotrocha*, *Asterina gibbosa*, *Patella coerulea* u. a. eine weitere Verbreitung zu besitzen.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. G. DE LATTIN, möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine stete Anteilnahme am Fortschreiten der Untersuchungen danken.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Prof. Dr. W. v. BUDDENBROCK für die Überlassung eines Arbeitsplatzes sowie vor allem für seine stete großzügige Unterstützung und Fürsorge.

Auch den Herren der Bergwerksleitung von Bad Grund, insbesondere Herrn Direktor Dr. SALAU, habe ich für die liebenswürdige Unterstützung beim Sammeln der Tiere zu danken.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Es wurden Untersuchungen über die Geschlechtsvererbung des Bachflohkrebses *Gammarus pulex* durchgeführt.

2. Von sieben auf ihr Geschlechtsverhältnis geprüften ober- und unterirdischen Freiland-Populationen besaßen fünf ein normales 1 : 1-Verhältnis. Eine Population erwies sich als stark weibchenreich (etwa 3 ♀♀ : 1 ♂), während bei einer anderen ein starkes Überwiegen der ♂♂ (etwa 1 ♀ : 6 ♂♂) festgestellt wurde. Diese Geschlechtsverhältnisse bleiben im Verlaufe des Jahres ziemlich konstant.

3. Mit Hilfe geeigneter Kreuzungskombinationen läßt sich bei der cavernicolen ssp. *subterraneus* mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit nachweisen, daß die dreigliedrige autosomale Allelenreihe $R^2 > r^+ > r$, die eine braune (R^2), olivfarbige (r^+) oder rote (r) Körperfarbe bedingt (ANDERS 1956a), einen starken Einfluß auf die Geschlechtsrealisation ausübt. Dabei besitzt das r-Allel stets eine starke und R^2 eine weniger starke ♂♂-realisierende Wirkung: das Standardallel r^+ beeinflußt das Geschlechtsverhältnis im allgemeinen nicht.

4. Das den Phänotyp des Muttertieres bestimmende Farballel hat im allgemeinen einen ungleich größeren Einfluß auf das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen als ein in heterozygoten ♀♀ vorhandenes rezessives Allel; ebenso bleiben die vom Vatertier stammenden Farballele im allgemeinen ziemlich wirkungslos. Auf diese Weise ergibt sich eine auffallende Parallelität zwischen dem bereits früher analysierten prädeterminativen Erbgang der Körperfärbung und der ebenfalls prädeterminativen Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses der Nachkommenschaft. — Nachkommenschaften roter (rr) ♀♀ sind daher, unabhängig vom Genotyp des Vatertieres und unabhängig vom eigenen Genotyp, überwiegend oder nahezu rein männlich. — Ebenso besitzen braune R^2-Muttertiere im allgemeinen vorwiegend männliche (etwa 70—80% ♂♂) Nachkommen.

5. An geeigneten Kreuzungskombinationen von r^+- und R^2-♀♀ mit *rr*-♂♂ läßt sich nachweisen, daß außer der *r*-Serie vor allen Dingen weiblich oder männlich orientierte Konstellationen einer Vielzahl von Realisatorgenen, die mehr oder weniger gleichmäßig über alle Autosomen verteilt liegen, über das Geschlecht entscheiden. — In diesen Kreuzungen treten neben Nachkommenschaften mit einem 1 : 1-Verhältnis auch männchenreiche und ganz unerwartet extrem weibchenreiche Zuchten auf. Die Ursache hierfür wird darin gesehen, daß neben den gewöhnlichen *rr*-Vatertieren mit einer vorwiegend männlich orientierten Realisatorenkonstellation auch solche vorkommen, deren Realisatoren — vom *r*-Allel abgesehen — vorwiegend weiblich orientiert sind. Die Vatertiere solcher vorwiegend weiblichen Nachkommenschaften werden als Individuen aufgefaßt, die nach der Konstellation ihres Realisatorenkomplexes ♀♀ sein müßten und die nur dank der vermännlichenden Wirkung des *r*-Allels — das in diesen Fällen weitgehend epistatisch über die anderen Realisatoren wird — zu ♂♂ determiniert wurden.

6. Eine unter dem Einfluß der Allele *r* und R^2 selektiv bedingte Anreicherung weiblich orientierter Realisatorkonstellationen im r^+-Genom hat zur Folge, daß eine auffallende Korrelation zwischen dem Standardallel r^+ und Weibchenreichtum besteht. Sehr ausgeprägt ist dies in r^+-Reinzuchten, deren durchschnittliches Geschlechtsverhältnis etwa 3 ♀♀ : 1 ♂ beträgt.

7. Versuche zur modifikatorischen Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses durch variierte Umweltbedingungen (Nahrung, Temperatur) verliefen bisher negativ.

8. Alle diese Tatsachen finden eine ungezwungene Deutung auf der Grundlage einer polyfaktoriellen Geschlechtsbestimmung.

Literatur

Anders, F.: Über die carotinoiden Körperpigmente und die Geschlechtsbestimmung von *Gammarus pulex* L. Naturwiss. **40**, 27 (1953). — Über Ausbildung und Vererbung der Körperfarbe bei *Gammarus pulex* ssp. *subterraneus* (Schneider), einer normalerweise pigmentlosen Höhlenform des gemeinen Bachflohkrebses. Z. Vererbungslehre **87**, 567—579 (1956a). — Modifikative und erbliche Variabilität der Pigmentierung bei einer Höhlenform von *Gammarus pulex* L. Verh. Dtsch. Zool. Ges. in Hamburg, 1956b (im Druck). — Bacci, G.: L'inversione del sesso ed il ciclos tragionale della gonade in *Patella coerulea* L. Pubbl. Staz. zool. Napoli **21**, 1 (1947). — Richerche su *Asterina gibbosa* (Penn.). II. L'ermafroditismo in una popolazione di Plymouth. Arch. ital. Zool. **34**, 49—75 (1949). — Osservazioni statistiche sulla determinazione dei sessi in *Patella coerulea* L. Pubbl. Staz. zool. Napoli **22**, 34 (1949). — L'ermafroditismo di *Calyptraea chinensis* L. e di altri Calyptraeidae. Pubbl. Staz. zool. Napoli **23**, 1—26 (1951). — Amputazione e successione delle fasi sessuali nel Polichete *Ophryotrocha puerilis*. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **27**, 1 (1951). — On two sexual races of *Asterina gibbosa* (Penn.). Experientia (Basel) **7**, 31 (1951). — La variabilità dei genotipi sessuali negli animali ermafroditi. Pubbl. Staz. zool. Napoli **26**, 110—137 (1955). — Bacci, G., e O. Pellegrini: Successione delle fasi sessuali in una popolazione die *Calyptraea chinensis* L. Sci. Genet. (Torino) **4**, 22 (1951). — Balesdent-Marquet, M. L.: Remarques sur le déterminisme de la poche incubatric chez le crustacé isopode *Asellus aquaticus* L. C. r. Acad. Sci. Paris **239**, 1872—1874 (1954). — Castration temporaire aux rayons X et déterminisme des caractères sexuels temporaires chez le Crustacé Isopode *Asellus aquaticus* L. C. r. Acad. Sci. Paris **240**, 1275 (1955). — Irradiation localisées aux rayons X et déterminisme des caractères temporaires chez le Crustacé Isopode *Asellus aquaticus* L. femelle. C. r. Acad. Sci. Paris **241**, 609 bis 611 (1955). — Becker, E.: Über Eigenschaften, Verbreitung und die genetisch-entwicklungsphysiologische Bedeutung der Ommatin- und Ommingruppe (Ommochrome) bei den Arthropoden. Z. Vererbungslehre **80**, 157—204 (1942). — Breider, H.: Geschlechtsbestimmung

und -differenzierung bei *Limia nigrofasciata, caudofasciata, vittata* und deren Artbastarden. Z. Vererbungslehre **68**, 265—299 (1935). — Über die Außenfaktoren, die das Geschlechtsverhältnis bei *Xiphophorus helleri* kontrollieren sollen. Z. Zool. **146**, 383 (1935). — Juveniles und adultes Geschlechtsverhältnis bei *Xiphophorus helleri* HECKEL. Z. Vererbungslehre **73**, 471 (1937). — Der Geschlechtsbestimmungsmechanismus in der Artdifferenzierung. Biol. Zbl. **68**, 32—49 (1949). — BREIDER, H., u. H. SCHEU: Die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts innerhalb der Gattung Vitis. Gartenbauwiss. **11**, 627 (1938). — BURNETT, J. H.: Carotene and sexuality in mucoraceae, especially in *Phycomyces blakesleeanus*. New Phytologist **55**, 45 (1956). — CALVEZ, J. LE, et P. CERTAIN: *Gammarus cheuvreuxi* SEXT. et la caryologie des Gammariens. Arch. Zool. expér. **88**, 131—141 (1951). — CHARNIAUX, H.: Castration chirurgicale chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*) et déterminisme des caractères sexuels secondaires. C. r. Acad. Sci. Paris **234**, 2570—2572 (1952). — Étude du déterminisme des caractères sexuels sécondaires par castration chirurgicale et implantation d'ovaire chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*). C. r. Acad. Sci. Paris **236**, 141—143 (1953). — CHARNIAUX-COTTON, H.: Implantation de gonades de sex opposé à des mâles et des femelles chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*). C. r. Acad. Sci. Paris **238**, 953—955 (1954). — Découverte chez un Crustacé Amphipode (*Orchestia gammarella*) d'une glande endocrine responsable de la différenciation de caractères sexuels primaires et secondaires mâles. C. r. Acad. Sci. Paris **239**, 780—782 (1954). — Le déterminisme hormonal des caractères sexuels d'*Orchestia gammarella*. C. r. Acad. Sci. Paris **240**, 1487—1491 (1955). — CHARNIAUX-LEGRAND, H.: Le cycle d'intermul des Amphipodes et ses particularités chez les formes terrestres (Talitridae). Arch. Zool. expér. **88**, 178 (1952). — CORRENS, C.: Gesammelte Abhandlungen zur Vererbungswissenschaft aus periodischen Schriften. Berlin: Springer 1924. — GALAN, F.: Analyse génétique de la monoecie et de la dioecie zygotiques et de leur différence dans *Ecballium Elaterium*. Act. Salmanticensia. Sect. Biol. **1951**, 7—15. — GOLDSCHMIDT, R.: Neue Tatsachen zur Analyse der Geschlechtsbestimmung bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **23**, 539—549 (1949). — The beaded Minute-intersexes in *Drosophila melanogaster* MEIG. J. of Exper. Zool. **112**, 233—302 (1949). — The maternal effect in the production of the Bd-M-intersexes in *Drosophila melanogaster*. J. of Exper. Zool. **117**, 75—110 (1951). — GOODWIN, T. W.: Carotinoids and reproduction. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **25**, 391 (1952). — GORDON, M.: Interchanging genetic mechanisms for sex determination in fishes under domestication. J. Hered. **37**, 307—320 (1946). — HAEMMERLI-BOVERI, V.: Über die Determination der sekundären Geschlechtsmerkmale (Brutsackbildung) der weiblichen Wasserassel durch das Ovar. Z. vergl. Physiol. **4**, 668 (1926). — HÄMMERLING, J.: Fortpflanzung und Sexualität, 1935—1944, in Fortschr. Zool., N. F. **1**—**8** (1937—1947). — HAEMPEL, O.: Über die Fortpflanzung und künstliche Zucht des gemeinen Flohkrebses *Gammarus pulex* und *fluviatilis*. Allg. Fisch.-Ztg **33** (1908). — HARTE, C.: Genetik der Samenpflanzen. Fortschr. Bot. **15**, 348—376 (1954). — HARTMANN, M.: Die Sexualität. Stuttgart: Gustav Fischer 1956. — HAUENSCHILD, C.: Phänotypische Geschlechtsbestimmung. Fortschr. Zool., N. F. **10**, 440—449 (1956). — HEINZE, K.: Fortpflanzung und Brutpflege bei *Gammarus pulex* L. und *Carinogammarus roescli* GERV. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **51**, 397—440 (1932). — HOFFMANN, W.: Die Vererbung der Geschlechtsformen des Hanfes (*Cannabis sativa* L.). I. Züchter **17/18**, 257—277 (1947). — Die Vererbung der Geschlechtsformen des Hanfes (*Cannabis sativa* L.). II. Züchter **22**, 147—158 (1952). — HOWARD, H. W.: Monogenic broods in *Armadillidium vulgare* LATR. Nature (Lond.) **144**, 979 (1939). — The genetics of *Armadillidium vulgare* LATR. II. Studies on the inheritance of monogeny and amphogeny. J. Genet. **44**, (1942). — The genetics of *Armadillidium vulgare* LATR. III. Dominant and recessive genes for red body colour. J. Genet. **51**, 259—269 (1953). — KINNE, O.: Zur Biologie und Physiologie von *Gammarus duebeni* LILLJ. III. Zahlenverhältnis der Geschlechter und Geschlechtsbestimmung. Kiel. Meeresforsch. **9**, 126—133 (1952). — Zur Biologie und Physiologie von *Gammarus duebeni* LILLJ. VII. Über die Temperaturabhängigkeit der Geschlechtsbestimmung. Biol. Zbl. **72**, 260—270 (1953). — KOSSWIG, C.: Die Geschlechtsbestimmung bei den Bastarden von *Xiphophorus helleri* und *Platypoecilus maculatus* und deren Nachkommen. Z. Vererbungslehre **54**, 263 (1930). — Die geschlechtliche Differenzierung bei den Bastarden von *Xiphophorus helleri* und *Platypoecilus maculatus* und deren Nachkommen. Z. Vererbungslehre **57**, 226—305 (1931). — Genotypische und phänotypische Geschlechtsbestimmung bei Zahnkarpfen. III. Farbfaktoren als relative Geschlechtsrealisatoren. Roux' Arch. **128**, 393

(1933). — Genotypische und phänotypische Geschlechtsbestimmung bei Zahnkarpfen. II. Biol. Zbl. **53**, 152 (1933). — Die Geschlechtsbestimmungsanalyse bei Zahnkarpfen. Z. Vererbungslehre **67**, 200 (1934). — Genotypische und phänotypische Geschlechtsbestimmung bei Zahnkarpfen. VI. Über polyfaktorielle Geschlechtsbestimmung. Roux' Arch. **133**, 140 (1935). — Idiotypus und Geschlecht. Z. Vererbungslehre **70**, 376 (1936). — Die Geschlechtsbestimmung in Kreuzungen zwischen *Xiphophorus* und *Platypoecilus*. Tatsachen und Deutungen, zugleich eine Erwiderung auf Goldschmidts und Hämmerlings Kritik. C. r. Fac. Sci. Univ. Istanbul **4**, 1 (1939). — Mitteilungen zum Geschlechtsbestimmungsproblem bei Zahnkarpfen. Rev. Fac. Sci. Univ. Istambul, Sér. B **6**, 1 (1941). — Zur Geschlechtsbestimmungsanalyse bei den Zahnkarpfen. Rev. Fac. Sci. Univ. Istambul, Sér. B **19** (3) 187—190 (1954). — Kosswig, C., u. H. Breider: Neue Ergebnisse der Geschlechtsbestimmungsanalyse bei Zahnkarpfen. Verh. dtsch. zool. Ges. **1937**, 275. — Lattin, G. de: Ein Farbgen als relativer Geschlechtsrealisator bei *Porcellio scaber* (Isopoda). Naturwiss. **36**, 89 (1949). — Farbgene und Geschlechtsbestimmung in der Gattung Tracheoniscus (Isop.). Verh. dtsch. zool. Ges. **1950**, 31. — Über die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts einiger Oniscoideen (Crust., Isop.) I. Untersuchungen über die geschlechtsbeeinflussende Wirkung von Farbfaktoren bei *Porcellio* und *Tracheoniscus*. Z. Vererbungslehre **84**, 1—37 (1951). — Über die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts einiger Oniscoideen (Crust., Isop.) II. Zur Vererbung der Monogenie von *Cyclisticus convexus* (Deg.). Z. Vererbungslehre **84**, 536—567 (1952). — Lattin, G. de, u. F. J. Gross: Die Beeinflußbarkeit sekundärer Geschlechtsmerkmale von *Oniscus asellus* durch die Gonaden. Experienta (Basel) **9**, 338 (1953). — Legrand, J. J.: Sexualité des isopodes terrestres. 13. Congr. Internat. de Zool. Paris 1948, S. 174. — Induction des caractères sexuels secondaires mâles chez les femelles des crustacés isopodes terrestres par implantation testiculaire. C. r. Acad. Sci. Paris **238**, 2030—2032 (1954). — Effects de l'implantation d'un testicule chez les femelles des crustacés isopodes terrestres. C. r. Acad. Sci. Paris **239**, 321 (1954). — Rôle endocrinien de l'ovaire dans la différenciation des oostégites chez les crustacés isopodes terrestres. C. r. Acad. Sci. Paris **241**, 1083 (1955). — Etude biométrique de la différenciation mâle des oniscoides femelles ayant reçu un implantat testiculaire: invalité de la loi du tout ou rien. C. r. Acad. Sci. Paris **242**, 686 (1956). — Legueux, M.: Etude de la ponte chez un Amphipode. (*Melita pellucida* S. O. Sars.) Bull. biol. France et Belg. **60** (1926). — Montalenti, G.: Recherches récentes sur la sexualité dans les crustacés et les mollusques. 13. Congr. Internat. de Zool. Paris 1948, S. 162, 1949. — Evoluzione della sessualita. Accad. Naz. Lincei **22**, 80 (1950). — Problèmes d'évolution. L'évolution de la sexualité. Paris: Hermann & Cie. 1955. — Montalenti, G., e G. Bacci: Osservazioni e ipotesi sulla determinazione des sesso negli ermafroditi. Estratto Sci. Genet. **4**, 1—12 (1951). — Mühlmann, H.: Variationsstatistische Untersuchungen und Beobachtungen an unter- und oberirdischen Populationen von *Gammarus pulex* L. Zool. Anz. **122**, 71—87 (1938). — Palmer, R.: The chromosome complex of *Gammarus chevreuxi* Sexton. I. Spermatogenesis. Quart. J. Microsc. Sci. **70**, 541—551 (1926). — Poisson, R., et J. Le Calvez: La garniture chromosomique de quelques Crustacés Amphipodes. C. r. Acad. Sci. Paris **227**, 228—230 (1948). — Roux, M. L. Le: Castration parasitaire et caractères sexuels chez les Gammariens. C. r. Acad. Sci. Paris **15**, 192 (1931). — Recherches sur la sexualité des Gammariens. Bull. Biol. France et Belg. Suppl. **16**, 1—138 (1933). — Rust, W.: Geschlechtsdifferentiator oder Modifikatoren im X-Chromosom von *Drosophila melanogaster*. Züchter **9**, 280—287 (1939). — Genetische Untersuchungen über die Geschlechtsbestimmungstypen bei Zahnkarpfen unter besonderer Berücksichtigung von Rückkreuzungen mit *Platypoecilus variatus*. Z. Vererbungslehre **79**, 336 (1941). — Ryckehen, I. van: Les cnidosporidies et autre parasites du *Gammarus pulex*. Cellule **39**, 400—417 (1930). — Schellenberg, A.: Amphipoda. Aus Dahl, Die Tierwelt Deutschlands, Bd. 40. 1942. — Schneider, R.: Der unterirdische Gammarus von Clausthal. Sitzgsber. preuß. Akad. Wiss. Berlin, Physik.-math. Kl. **49**, 1087 (1885a). — Über subterrane Organismen. Abh. Progr. Real-Gymnasium Berlin **1885**b, 1—32. — Schwier, H.: Geschlechtsbestimmung und -differenzierung bei *Macropodus opercularis, concolor, chinensis* und deren Artbastarden. Z. Vererbungslehre **77**, 292—335 (1939). — Seitz, I.: Über das Vorkommen von Monogenie bei der Wasserassel (*Asellus aquaticus* L.). Naturwiss. **40**, 394 (1953). — Jahreszeitliche Schwankungen im Geschlechtsverhältnis freilebender Populationen von *Asellus aquaticus*. Zool. Anz. **153**, 269—275 (1954). — Sexton, E. W., and A. R. Clark: Heterozygotes in a wild population of *Gammarus chevreuxi* Sexton. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **21**, 319—355

(1936). — A summary of the work on the Amphipod *Gammarus chevreuxi* Sexton carried out at the Plymouth Laboratory 1912—1936. J. Mar. Biol. Assoc. U. Kingd. **21**, 357—414 (1936). — Stein, E.: Dem Gedächtnis von Carl Erich Correns nach einem halben Jahrhundert der Vererbungswissenschaft. Naturwiss. **37**, 457—463 (1950). — Taliew, D. N.: Über die eingeschlechtige Fortpflanzung bei *Comephorus baikalensis* Pall. (Pisces, Comephoridae). Dokl. Akad. Nauk. SSSR. **69**, 105—108 (1949) [Russisch]. — Turian, G.: Caroténoides et différenciation sexuelle chez *Allomyces*. Experientia (Basel) **8**, 302 (1952). — Vandel, A.: Le mode de répartition des sexes chez *Trichoniscus* (*Spiloniscus*) *provisorius*. II. Femelles deutérogénes et femelles monogénes. C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 825 (1936). — Le mode de répartition des sexes chez *Trichoniscus* (*Spiloniscus*) *provisorius*. L'hérédité de la monogénie. C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 1188 (1936). — Recherches sur la sexualité des Isopodes. III. Le déterminisme du sexe et de la monogénie chez *Trichoniscus* (*Spiloniscus*) *provisorius*. Bull. biol. France et Belg. **72**, 147 (1938). — Recherches sur la génétique et la sexualité des Isopodes. VI. Les phénoménes de monogénie chez les Oniscoides. Bull. biol. France et Belg. **75**, 316 (1941). — Recherches sur la génétique et la sexualité des Isopodes terrestres. IX. Recherches de génétique sur quelques Oniscoides. Bull. biol. France et Belg. **79**, 2 (1945). — Recherches sur la génétique et la sexualité des Isopodes terrestres. X. Etude des garnitures chromosomiques de quelques espèces d'Isopodes marins dulcaquicoles et terrestres. Bull. biol. France et Belg. **81**, 154 (1947). — L'intersexualité chez les Isopodes terrestres. Bull. Mus. Hist. natur. Marseille **7**, 170—174 (1947). — Wagler, E.: Zucht von Krebsen und Würmern. Aus Aederhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IX, Teil 2. 1937. — Westergaard, M.: Studies on cytology and sex determination in polyploid forms of *Melandrium album*. Dansk bot. Ark. **10**, 1—131 (1940). — Über den Mechanismus der Geschlechtsbestimmung bei *Melandrium album*. Naturwiss. **40**, 253—260 (1953). — Winge, Ö.: The experimental alternation of sex chromosomes into autosomes and vice versa as illustrated by *Lebistes*. C. r. Trav. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. **21**, 1—49 (1934). — Wundsch, H. H.: Beiträge zur Biologie von *Gammarus pulex*. Arch. f. Hydrobiol. **13**, 478—531 (1922). — Methoden der Fischereibiologie. Aus Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IX, Teil 2. 1937. — Zoschke, U.: Untersuchungen über die Bestimmung des Geschlechts beim Spinat (*Spinacia oleracea* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Züchtung eines monözischen oder gleichzeitig schossenden Spinats. Z. Pflanzenzüchtung **35**, 257—296 (1956).

Dr. Fritz Anders, Forschungsinstitut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof (Pfalz)

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 333—373 (1957)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Göttingen

ÜBER RÖNTGENMOSAIKFLECKEN UND DEFEKTMUTATIONEN AM AUGE VON *DROSOPHILA* UND DIE ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGIE DES AUGES

Von

HANS JOACHIM BECKER

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. Februar 1957)

I. Einleitung

Nach den Untersuchungen von PATTERSON (1929) weiß man, daß Röntgenstrahlen in somatischen Zellen ebenso wie in den Zellen der Keimbahn Erbänderungen hervorrufen können. Werden diese Änderungen auf Entwicklungsstadien eines Tieres ausgelöst, dann werden von den betroffenen Zellen Gewebekomplexe gebildet, die sich genetisch von den übrigen Geweben unterscheiden, sogenannte Mosaikbereiche. Soweit dabei der Augenpigmentierungsfaktor *white* beteiligt ist, entstehen Mosaikbereiche, deren Phänotyp allein von ihrer eigenen Konstitution abhängt.

Mit dieser Möglichkeit, einzelne Zellen zu markieren, wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, die Wachstumsordnung des präsumptiven Augenbereiches zu ermitteln. Aus dem Ergebnis dieser Untersuchung konnten gleichzeitig Folgerungen gezogen werden über entwicklungsphysiologische Vorgänge in der Kopfimaginalanlage. Die aus diesen Mosaikversuchen gewonnenen Einsichten werden ergänzt durch die Ergebnisse der Untersuchung einer neuen Augenformmutante.

Es wird weiterhin ein Beitrag zur Analyse der Mosaikfleckenentstehung durch Röntgenbestrahlung gegeben. Ferner wurde die Teilungstätigkeit in den larvalen Augenimaginalanlagen untersucht.

Im folgenden sollen im Anschluß an die Ergebnisse der Zell- und Mitosezählungen zunächst die sich aus ihnen und den Bestrahlungsversuchen ergebenden Folgerungen für den Fleckentstehungsmechanismus gebracht werden, und dann alle Ergebnisse, die zur Kenntnis der Entwicklungsphysiologie des Auges beitragen.

II. Material und Methode

Für die Bestrahlungsversuche wurden Weibchen vom Stamm Berlin-normal mit Männchen gekreuzt, die in den einzelnen Versuchen verschiedene Konstitution hatten. Die Merkmale der Männchen und ihre Bedeutung werden jeweils an geeigneter Stelle im Text beschrieben.

Die *Zuchttemperatur* war bei diesen Versuchen $25 \pm 0{,}5^0$ C.

Die Fliegen wurden nach dem Zusammensetzen der Geschlechter 3—4 Tage auf hefebeimpftem Grieß-Sirup-Nährboden gefüttert und dann unter die Glocke einer von ULRICH (1953) beschriebenen Eilegevorrichtung gebracht. Zur *Altersbestimmung* embryonaler Stadien wurden die Eier in 2—4stündigen Intervallen gesammelt. Zur Altersbestimmung der postembryonalen Stadien wurden die frisch geschlüpften Larven wiederum in Zeitabständen von 2—4 Std ausgelesen.

Die *Bestrahlung* der so gewonnenen Eier und Larven wurde in frühen Versuchen mit dem Chaoul-Körperhöhlenrohr (60 kV, 6 mA, 0,1 mm Al Anodenverkleidung, Focusabstand 5 cm, Dosisleistung 150 r/min) und später mit dem Röntgengerät RT 100 von C. H. F. Müller,

Hamburg[1] (85 kV, 8 mA, Filter 1,25 Al, Focusabstand 20 cm. Dosisleistung 250 r/min) ausgeführt. Die Eier und Larven wurden mit Dosen von 200—2000 r bestrahlt, jedes Altersstadium mit der Dosis, bei der die Zahl der überlebenden Fliegen und der Effekt in möglichst günstigem Verhältnis zueinander standen. Für die Larvenstadien wurde später die einheitliche Dosis von 1200 r genommen.

Untersucht wurden die Augen der aus den bestrahlten Eiern und Larven sich entwickelnden Imagines.

III. Ergebnisse

1. Die Entwicklungsgeschichte des Auges

Die *Entwicklungszeiten* des Eistadiums und der 3 Larvenstadien von *Drosophila melanogaster* sind für die Zuchttemperatur von 25° C von MA (1944) genauer bestimmt:

Stadium	Ei	1. Larvenstadium	2. Larvenstadium	3. Larvenstadium
Dauer in Stunden	20,5	22	21	44

Die Dauer der einzelnen Entwicklungsabschnitte bei den eigenen Versuchstieren stimmt mit diesen Angaben gut überein.

Einzelne Daten zur *Entwicklungsgeschichte des Auges* sind von verschiedenen Autoren zusammengetragen worden (KRAFKA 1924, CHEN 1929, ENZMANN und HASKINS 1938, KALISS 1939, STEINBERG 1941a, 1943, PILKINGTON 1942, BODENSTEIN 1950, POULSON 1950). Nach KALISS ist ein unpaarer Kopfsack bereits im 12 Std alten Embryo ausgebildet (s. Abb. 13). Beim 16stündigen Embryo ist nach POULSON der hintere Teil dieses Frontalsackes verdickt und zeigt die ersten Anzeichen einer Bilateralität; er hat aber auch 6 Std nach dem Schlüpfen der Larve noch keine Peripodialsäckchen ausgebildet. In der 16stündigen Larve werden die paarigen Peripodialsäckchen zuerst sichtbar. Sie haben nach weiteren 8 Std den ersten Kontakt mit dem Gehirn. Der Boden der Peripodialsäckchen, aus dem der Kopf mit Ausnahme der Mundwerkzeuge hervorgeht, hat bis zur 40stündigen Larve blattartige Gestalt, und erst im Larvenalter von 48 Std ist deutlich ein vorderer Teil — die Antennenanlage — und ein hinterer Teil — die Augenanlage — zu erkennen. 72 Std nach dem Schlüpfen der Larve aus dem Ei werden nach STEINBERG im Zentrum der Augenanlage die ersten Vorläufer der späteren Ommatidien als Komplexe von je 4 Zellen sichtbar. Bis zur Puppariumbildung ist die Anzahl dieser Vierzellkomplexe auf die der Ommatidien angewachsen. Die weitere Differenzierung der Ommatidien findet in der Vorpuppe und in der Puppe statt.

Bei der vorliegenden Untersuchung erwies es sich als notwendig, auch *quantitative Feststellungen über die zeitlichen Veränderungen der Zellenanzahl und der Mitosetätigkeit in der Kopfanlage* zu treffen.

CHEVAIS (1944) benutzte für den gleichen Zweck Schnittpräparate nach Feulgen-Totalfärbung. Bei der eigenen Untersuchung zeigte sich jedoch bald, daß mindestens für die quantitative Erfassung der Mitosetätigkeit Schnittpräparate wenig geeignet sind. Als brauchbarer erwiesen sich Quetschpräparate in Orcein-Milchsäure-Essigsäure. Die Untersuchung mußte allerdings auf das 2. Larvenstadium beschränkt bleiben, denn die Anlagen sind im 1. Larvenstadium zu klein, um herauspräpariert werden zu können, und im 3. Larvenstadium zu groß, als daß nach dem Quetschen alle Zellen übersichtlich genug ausgebreitet wären. Die Anlagen wurden in 2stündigen Intervallen präpariert, in Karminessigsäure fixiert und gefärbt und vorsichtig in Orcein-Milchsäure-Essigsäure gequetscht.

Das Ergebnis der *Zellzählungen* gibt Abb. 1 wieder. Jeder Punkt der Abbildung entspricht einer Anlage. Die Anzahl der Zellen der Kopfanlage nimmt danach mit steigendem Larvenalter erwartungsgemäß zu. Am Anfang des Stadiums streuen die gezählten Werte stärker als am Ende. Diese Streuung rührt sehr wahrscheinlich daher, daß bei der Präparation der Anlagen junger

[1] Das Gerät wurde dem Institut von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellt.

Larven leicht Teile der Anlagen verlorengehen. Auch bei Berücksichtigung dieser Tatsache wird man wohl dem Verlauf der Punktreihe am ehesten gerecht mit der Aussage, daß *die Zunahme der Zellanzahl* gegen Ende des 2. Stadiums verringert ist und *um die Zeit der Häutung zum nächsten Stadium erneut stärker wird.*

Nach der Darstellung der eigenen Zählungsergebnisse in Abb. 1 setzt die erneute Verstärkung der Zellenzunahme schon 1 Std vor Ende des 2. Larvenstadiums ein. Dies ist an sich wohl wenig wahrscheinlich. Da das Alter der

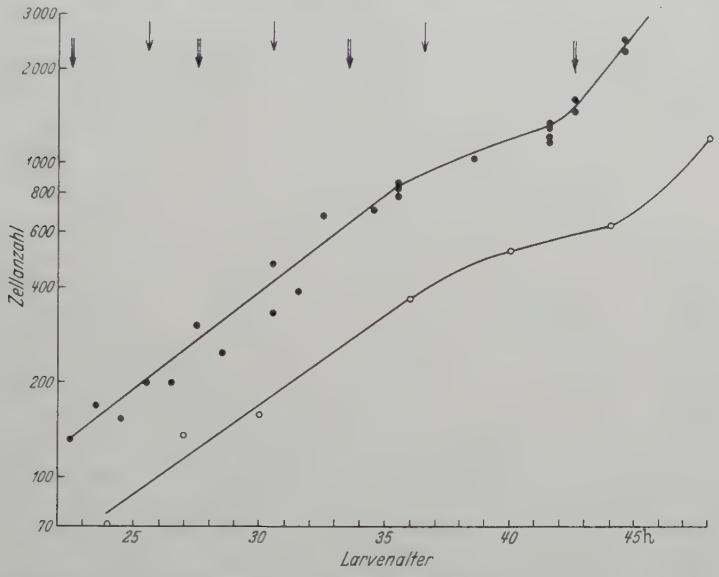

Abb. 1. Die Zellanzahl der Kopfanlage (Ordinate) in Abhängigkeit vom Larvenalter (Abszisse) für das 2. Larvenstadium (von 22—43 Stdn; Punkte) und die von CHEVAIS (1944) gezählten Werte (Kreise). ⇓ Minima der Mitosenkurve (Abb. 2); ↓ Maxima der Mitosenkurve (Abb. 2)

Larven vom Schlüpfen der Larven des 1. Stadiums aus dem Ei an gerechnet ist, könnte es sehr wohl dadurch vorgetäuscht sein, daß in dem hier untersuchten Material die Häutung zum 3. Stadium etwas früher als sonst eingetreten ist, etwa infolge einer etwas erhöhten Temperatur. Repräsentativ für die Größe der Anlage am Ende des 2. Larvenstadiums wäre dann nicht der Wert der 42—43-stündigen Larven von etwa 1600, sondern der der 41—42stündigen von etwa 1300 Zellen.

Die in Abb. 1 mit eingetragenen von CHEVAIS (1944) gezählten Werte entsprechen der hier gegebenen Deutung. Sie liegen zwar im ganzen tiefer als die neu erhobenen — zweifellos auf Grund der angewendeten Zählmethode —, zeigen aber auch ein Nachlassen der Zellenzunahme am Ende des 2. Larvenstadiums und weiterhin eine erneute Steigerung, hier aber erst am Anfang des 3. Stadiums.

Der niedrigste zu Beginn des 2. Larvenstadiums festgestellte Wert für die Zellenanzahl der Anlage beträgt 131 Zellen. Der wahre Wert liegt hier eher höher als tiefer. Er wächst im Laufe des Stadiums auf 1300 oder höchstens auf 1600. *Demnach steigt die Zellenanzahl in der Kopfanlage im 2. Larvenstadium höchstens*

auf etwa das 12fache, wahrscheinlich weniger, aber mindestens auf etwa das 8fache des Ausgangswertes.

Zur Untersuchung der *Mitosetätigkeit* wurde bei den in Abb. 1 verzeichneten Anlagen sowie bei einer Reihe weiterer, die bei der Präparation sichtlich beschädigt waren, der prozentuale Anteil der sich in Teilung befindenden Zellen bestimmt.

Als Mitosestadien wurden alle Zustände von der frühen Prophase bis zur späten Anaphase bewertet, und zwar diente als Kriterium für die frühesten noch gezählten Prophasen die deutliche Erkennbarkeit der vier heterochromatischen Abschnitte an den Kinetochoren eines Homologenpaares (s. HEITZ 1934), für die späten Anaphasen die deutliche Erkennbarkeit der einzelnen Chromosomen in beiden Tochtergarnituren.

Tabelle 1 und Abb. 2 zeigen das Ergebnis. *Danach treten in der Anlage im Laufe des 2. Larvenstadiums 3 Mitosewellen auf.* Der Anteil sich teilender Zellen

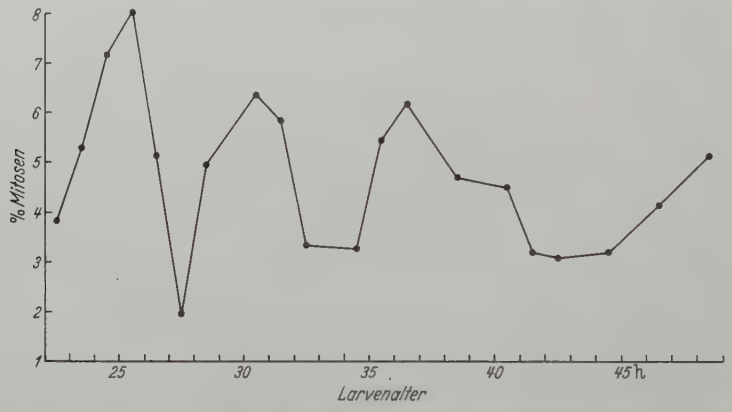

Abb. 2. Prozentsatz der sich in Mitose (Pro- bis Anaphase) befindenden Zellen der Kopfanlage (Ordinate) bei den verschiedenen Altersklassen des 2. Larvenstadiums (Abszisse)

steigt zu Beginn des Stadiums bis zu einem Maximum bei Larven im Alter von 25—26 Std und fällt dann ab zu einem Minimum bei 27—28stündigen Tieren. Die Maxima der beiden nächsten Mitosewellen liegen bei 30—31- bzw. 36—37-stündigen, die sich jeweils anschließenden Minima bei 33—34- bzw. 42—43stündigen Larven. Das letzte dieser Minima liegt am Ende des Larvenstadiums. Die Unterschiede zwischen den maximalen und den minimalen Werten sind statistisch gesichert, mit Ausnahme des Unterschiedes zwischen dem Ausgangswert bei 22—23stündigen Larven und dem 1. Maximum bei 25—26stündigen. Die Anzahlen der gezählten Zellen sind hier verhältnismäßig niedrig. Aus dem Verlauf der Kurve ist zu schließen, daß auch dieser Unterschied real ist.

Das Auftreten der Mitosewellen innerhalb eines Larvenstadiums wäre am einfachsten zu erklären, wenn man annehmen dürfte, daß auf den zu Beginn des Stadiums auftretenden Anstoß zur Zellteilungstätigkeit hin die Mehrzahl der Zellen gleichermaßen 3 Teilungsschritte durchmachen, die entsprechend der Abfolge der Mitosemaxima aufeinanderfolgen. Zieht man die in Abb. 1 gegebenen Zellenanzahlen hinzu, so ergibt sich, daß vom 1. zum 2. Minimum die Zellenanzahl sich von 131 auf 306 vergrößert, d. h. um 134%. Vom 2. zum 3. Minimum vergrößert sich die Anlage von 306 auf etwa 700 Zellen, also um 129% und vom 3. zum 4. Minimum von ~700 auf ~1600, also gleichfalls um 129%. Nach den Werten der Abb. 1 beträgt die Zellenzunahme je Mitosenwelle also etwa 130%.

Tabelle 1. *Die Zellteilungstätigkeit in der Augenanlage des 2. Larvenstadiums*

Alter der Larven Std	Zahl der Anlagen	Gezählte Zellen		Pro-, Meta- und Anaphasen		%		m	Differenz	$m_{Diff.}$	Differenz m / Diff.
22—23	1	131		5		3,82		1,67			
23—24	1	170		9		5,30			3,83	2,19	1,75
24—25	1	154	354	11	27	7,15	7,65	1,41			
25—26	1	200		16		8,00					
26—27	2	370		19		5,13			5,69	1,62	3,52
27—28	1	306		6		1,96		0,80			
28—29	2	466		23		4,95			4,26	1,03	4,15
30—31	3	1037	1431	66	89	6,36	6,22	0,64			
31—32	1	394		23		5,85			2,93	0,76	3,86
32—33	1	690	1853	23	61	3,34	3,29	0,41			
34—35	2	1163		38		3,27					
35—36	3	2544		138		5,43			2,86	0,77	3,72
36—37	2	1359		94		6,15		0,65			
38—39	1	1065		50		4,70					
40—41	1	802		36		4,50			3,08	0,73	4,25
41—42	4	5189		165		3,18					
42—43	2	3193		98		3,07		0,32			
44—45	3	6470		205		3,18					
46—47	1	2676		110		4,12			2,03	0,43	4,80
48—49	2	5722		291		5,10		0,29			

Tabelle 2. *Die Anzahl der Mosaikflecken im Auge von $w^+ sn^+/w\,sn$-Weibchen nach Bestrahlung verschiedener Larvenaltersklassen mit 1200 r (85 kV, 8 mA, 1,25 Al, 20 cm Focusabstand, 250 r/min). Zuchttemperatur 25° C*

Alter der Larven zur Zeit der Bestrahlung Std	Anzahl der Augen							Gesamtaugen	Gesamtflecken	Anzahl der Flecken je 100 Augen
	ohne Flecken	mit 1 Fleck	mit 2 Flecken	mit 3 Flecken	mit 4 Flecken	mit 5 Flecken	6 und mehr			
0— 2	212	7	1					220	9	4,1
2— 4	363	20	1					384	22	5,7
4— 9	311	33	7	1				352	50	14,2
9—15	301	57	12	4				374	93	24,9
15—18	108	30	4	4				146	50	34,2
18—20,5	112	40	10	4				166	72	43,5
20,5—23	273	88	14	3				378	125	33,0
23—25	233	91	17	5	2			348	148	42,8
25—27	296	119	35	8	2			460	221	48,2
27—29	233	138	58	12	1			442	294	66,5
29—31	169	112	59	11	5			356	283	80,0
31—34	148	160	65	26	5	1	1	406	399	98,5
34—36	131	153	107	36	19			446	551	123,5
38—40	43	87	63	35	11	1	2	242	379	157,0
40—42	89	163	145	104	42	11	4	558	1012	182,0
42—45	123	148	98	45	30	9	1	454	650	143,0
45—47	115	184	155	115	44	17	4	633	1123	178,0
47—49	50	89	95	75	44	22	21	396	916	232,0
49—51	13	44	69	51	46	23	20	266	754	283,0
Kontrolle	1517	7						1524	7	0,46

Diese Werte würden besagen, daß im Verlauf einer Mitosenwelle 85% aller Zellen der Anlage 1mal und die restlichen 15% im Mittel 2mal geteilt werden. Da aber, wie oben (S. 335) dargelegt, die für den Anfang des 2. Larvenstadiums gefundenen Zellenanzahlen wahrscheinlich zu niedrig, die für das Ende gefundenen zu hoch sind, erscheint nur *ein Teilungsschritt je Mitosenwelle* gesichert. Doch ist

damit zu rechnen, daß *ein gewisser Prozentsatz der Zellen im ganzen mehr als 3 Teilungsschritte* durchmacht.

Während die Zunahme der Zellenanzahlen in den 3 Mitosewellen etwa gleich ist, *nimmt die Dauer jeder Welle der vorhergehenden gegenüber zu.* Die erste Welle dauert 5, die zweite 6 und die dritte 9 Std. Das entspricht der verlangsamten Zellzunahme am Ende des Larvenstadiums (Abb. 1).

Die Ordinatenwerte der Mitosenkurve (Abb. 2) gehen nicht über 8% hinaus; andererseits nimmt die Zellenanzahl in einer Mitosenwelle um mindestens 100% zu. Daraus folgt, daß *die Dauer der beobachteten Mitosestadien klein ist im Vergleich zur Dauer der ganzen Mitosenwelle.* Die mittlere Dauer einer Mitose ist für jede Welle zu berechnen aus der Summe der in 60 min-Intervallen gezählten Mitosenprozente (bezogen auf die Zellenanzahl zu Beginn der Welle), der Intervalllänge (60 min) und der prozentualen Zellenzunahme im Laufe der Welle. Für die mittlere Dauer der registrierten Mitosestadien in der 1. Welle ergibt sich danach eine Zeit von 18,6 min, in der 2. Welle von 20,6 und in der 3. Welle von 30,0 min. *Die Dauer der Einzelmitose nimmt also von Welle zu Welle zu*, besonders von der 2. zur 3. Welle.

In allen Larvenaltersklassen werden Mitosen in den Anlagen angetroffen. Bei der geringen Dauer der Einzelmitose bedeutet dies, daß der *Zeitpunkt des Eintritts der Zellen in die Mitose innerhalb einer Mitosenwelle stark variiert.* Zwar sind, wie die Maxima der Mitosenkurve zeigen, bevorzugte Zeiten für den Eintritt der Zellen in die Mitose vorhanden; doch ist durch Berechnung der Zellenanzahl, um die die Anlage in jedem 60 min-Intervall den gezählten Mitosen gemäß zunehmen sollte, leicht zu zeigen, daß trotzdem ein auffallend treppenförmiger Anstieg der Zellenanzahlen, der nach Abb. 1 offenbar nicht vorliegt, auch nicht zu erwarten ist.

Die Zell- und Mitosezählungen ergeben also folgendes Bild: Die Zellenanzahl einer Kopfanlage nimmt im Laufe des 2. Larvenstadiums auf mindestens das 8fache, höchstens das 12fache zu. Dabei treten 3 Mitosewellen auf. Die Dauer der Wellen und ebenso die mittlere Dauer der Mitosen in den 3 Wellen nimmt von der 1. zur 3. Welle zu.

2. Die Mosaikflecken nach Röntgenbestrahlung

a) Die Häufigkeit der Mosaikflecken im w^+/w-Versuch

Nach Bestrahlung normaler Larven treten bei den männlichen Imagines Mosaikflecken mit Merkmalen geschlechtsgebundener Mutationen auf. Mit Hilfe der Häufigkeit und der Größe dieser Flecken konnte festgestellt werden (LEFEVRE 1950), daß Genmutationen im Soma etwa ebenso häufig auftreten wie in der Keimbahn. In den Autosomen beider Geschlechter und in den X-Chromosomen der Weibchen tritt in beiden Chromosomen gleichzeitig die Mutation eines bestimmten Gens naturgemäß nur im Quadrat der Mutationswahrscheinlichkeit auf.

Behandelt man nun aber für einen mutanten Faktor heterozygote Tiere, dann treten Mosaikflecken mit dem Merkmal des heterozygoten Markierungsfaktors weit häufiger auf, als nach der Mutationsrate des normalen Allels zu erwarten wäre. In diesen Fällen können durch Röntgenstrahlen außer über Genmutationen offenbar auch auf dem Weg über andere Veränderungen des Genotyps Mosaikflecken gebildet werden.

Im vorliegenden Versuch wurde *die Häufigkeit der weißen Mosaikflecken im Auge* untersucht, die bei Weibchen der Konstitution $w^+ sn^+/w\ sn$ nach Röntgenbestrahlung ihrer Larven auftraten. Die Ergebnisse für die verschiedenen Be-

strahlungsaltersklassen geben Tabelle 2 und Abb. 3 wieder. Die Häufigkeit der Flecken bei den Fliegen nimmt mit fortschreitendem Bestrahlungsalter der Larven zu. Das ist verständlich, da die Anzahl der in einer Bestrahlungsalters klasse auszulösenden Flecken in erster Linie von der Anzahl der Zellen des präsumptiven Augenbereiches abhängen wird. Dabei zeigt sich aber, wenn man zunächst das 2. Larvenstadium in Abb. 3 betrachtet, daß die Kurve einen von der Zellenzunahme (Abb. 1) verschiedenen Verlauf nimmt, denn sie steigt nicht anhaltend an, sondern fällt in den beiden letzten Stunden des Stadiums ab. Dieses Verhalten zeigte die Kurve auch in allen Vorversuchen. Die Verschieden-

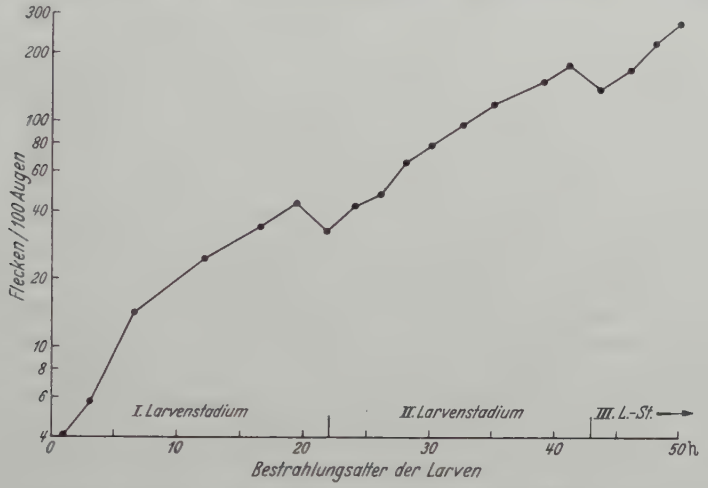

Abb. 3. Die Abhängigkeit der Mosaikfleckenhäufigkeit bei $w^+ sn^+/w\ sn$-Weibchen vom Bestrahlungsalter. Ordinate: Anzahl der Flecken je 100 Augen; Abszisse: Bestrahlungsalter der Larven (Stunden) (vgl. Tabelle 2)

heit des gegen Ende des Stadiums liegenden Gipfelwertes von dem nächsten tiefer liegenden Wert ist allein durch die Werte der Tabelle 2 bei Anwendung des χ^2-Testes mit einem P-Wert von $\sim 10^{-5}$ hoch gesichert. Auch am Ende des 1. Stadiums nimmt die Fleckhäufigkeit vorübergehend ab. Diese Abnahme ist zwar nicht zu sichern, aber sie ist auch in anderen Versuchsserien, von denen eine in Abb. 4 wiedergegeben ist, gefunden worden. *Die Häufigkeit der bei konstanten Bestrahlungsbedingungen ausgelösten Mosaikflecken hängt folglich nicht allein von der Anzahl der Zellen in der Anlage ab.*

Der Rückgang der Fleckhäufigkeit gegen Ende des Larvenstadiums läßt sich erklären mit der Annahme einer *unterschiedlichen Röntgensensibilität verschiedener Stadien des Mitosezyklus*, wie sie für viele Fälle bekannt ist. Wie Abb. 2 zeigt, verläuft die Mitosetätigkeit während des einzelnen Larvenstadiums nicht gleichmäßig, sondern in Wellen, deren letzte gegen Ende des Stadiums einen über längere Zeit sich erstreckenden Abfall zeigt. Dabei müssen entsprechend dem Verlöschen am Ende des Stadiums die Frühstadien der Mitose zuerst abnehmen, und wenn der besonders empfindliche Zustand in dieser Zeit liegt, wird er sich am ehesten in der Kurve der Fleckhäufigkeiten abzeichnen können. Daß die voraufgehenden Wellen der Mitosetätigkeit in der Fleckhäufigkeitskurve

nicht zum Ausdruck kommen können, kann darauf beruhen, daß die Altersvariabilität der Tiere in den Bestrahlungsaltersklassen größer ist als die der zu den Zell- und Mitosezählungen präparierten Larven.

Vergleicht man die *Zunahme der Fleckhäufigkeit* im 2. Stadium *quantitativ* mit der Zunahme der Zellenanzahl der Kopfanlage im gleichen Zeitabschnitt, dann entspricht die Zunahme der Fleckhäufigkeit von 33 Flecken je 100 Augen beim Bestrahlungsalter von 20,5—23 Std auf 143 Flecken je 100 Augen bei 42—45 Std (Tabelle 2) etwas mehr als 2 Teilungsschritten im präsumptiven Augenbereich, während für die gesamte Kopfanlage im gleichen Zeitabschnitt mindestens 3 Teilungsschritte gefunden wurden. Als Erklärung für diese Diskrepanz kommt zunächst in Frage, daß im präsumptiven Augenbereich eine geringere Teilungsintensität herrscht als im übrigen Teile der Kopfanlage. Außerdem kann aber auch ein Teil der sehr kleinen am Ende des Stadiums ausgelösten Flecken übersehen worden sein. Schließlich kann auch eine selektive Beeinflussung der Zellteilungsintensität der fleckbildenden Zellen eine Herabsetzung der Zunahme der Fleckhäufigkeit mit steigendem Bestrahlungsalter bewirken. Man hätte sich dann vorzustellen, daß bei hohem Behandlungsalter bestrahlte Zellen in ihrer Teilungstätigkeit dermaßen gehemmt werden, daß sie bis zur Metamorphose die Teilung nicht wieder aufnehmen und keinen Fleck mehr ausbilden können. Solch eine Teilungshemmung nach Bestrahlung, besonders eine Verzögerung der Kerneröffnung, die an einer starken Zunahme der Prophasenanzahl abzulesen ist, ist aus vielen Versuchen bekannt (s. Marquardt 1950). Da demnach das für die teilungshemmende Wirkung der Röntgenstrahlen sensible Stadium möglicherweise das gleiche ist wie das einer bevorzugten Fleckauslösung, wäre es auch verständlich, wenn vorwiegend die fleckbildenden Zellen und nicht alle präsumptiven Augenzellen von der Teilungshemmung betroffen wären.

b) Die Häufigkeit der Einzel- und Zwillingsflecken im w/w^{co}-Versuch

Die Einschränkung des fleckerzeugenden Ereignisses auf Frühstadien der Mitose schließt zunächst keinen der von zahlreichen Autoren diskutierten Mechanismen aus. Es könnten also *Genmutationen*, *anomale Chromosomenverteilung*, *Chromosomenmutationen und somatischer Faktorenaustausch* die Entstehungsursachen der Mosaikflecken sein.

In welchem Umfang *Genmutationen* am *white*-Locus die Ursache für die Änderung der genetischen Konstitution der Zelle bilden, ergibt sich aus der Häufigkeit, mit der bei normalen Männchen Mosaikflecken beobachtet werden, da hier allein Genmutationen in Betracht kommen. Nach Behandlung 45—55stündiger Larven mit 1200 r wurden bei den untersuchten Männchen an 904 Augen 7 weiße Flecken gefunden, also 0,77 Flecken je 100 Augen. Bei gleichaltrigen Tieren erhielt Lefevre (1950) bei Einwirkung von 1300 r ähnliche Zahlen. Er fand jedoch nach Behandlung 28stündiger Larven mit 1300 r eigenartigerweise häufiger Flecken als nach Behandlung der älteren Stadien, nämlich 47 Flecken bei 2542 Augen, also 1,85 Flecken je 100 Augen. Selbst bei Zugrundelegung dieser letzten relativ hohen Zahl machen bei den angewendeten Bestrahlungsdosen röntgeninduzierte Genmutationen bei heterozygoten Weibchen nur etwa 3% der Fleckentstehungsursache aus, denn bei in gleichem Alter mit nur 1200 r bestrahlten Weibchen traten 294 Flecken bei 442 Augen, also 66,5 Flecken bei 100 Augen auf; bei Zugrundelegung des eigenen niedrigeren Wertes ist der Anteil noch geringer.

Eine *Störung der Chromosomenverteilung*, wie sie z. B. als *Chromosomenelimination* (Sturtevant 1929 und De Marinis 1952 für *Drosophila*, Kühn und Woywod 1946 für *Ephestia*)

oder als *Nichttrennen zweier Chromatiden* (Kühn und Woywod 1946) bei Anwesenheit bestimmter mutanter Faktoren auftritt, ist in diesen Fällen bevorzugt in den ersten Furchungsteilungen beobachtet worden. Daß sie für das Auftreten der weißen Mosaikflecken in den hier beschriebenen Versuchen nicht berücksichtigt zu werden braucht, zeigen die Bestrahlungsversuche von Patterson (1929, 1930), Friesen (1935) und Shapiro (1941). Bei ihnen traten nämlich nach Bestrahlung von Larven, die heterozygot für mehrere auf einem Chromosom liegende Markierungsfaktoren waren, häufig Mosaikflecken mit Merkmalen nur eines Teiles der Faktoren auf; und für die Fälle, in denen alle Markierungsfaktoren sichtbar wurden, ließ sich durch Benutzung eines X-Chromosoms mit einer Duplikation rechts vom Centromer [*Theta, Dp (1; 1) Th*] zeigen, daß tatsächlich ein Verlust des ganzen Chromosoms nicht eingetreten war.

Es bleiben noch solche röntgeninduzierte Veränderungen, welche die Chromosomen selbst betreffen, sei es als Chromosomenmutation oder als somatischer Austausch.

Chromosomenmutationen sind als Fleckentstehungsursache bisher nicht sicher nachgewiesen worden. Friesen (1935) und Shapiro (1941) nehmen diesen Mechanismus jedoch zur Deutung ihrer Ergebnisse in Anspruch. Beide Autoren erhalten nach Bestrahlung mehrfach Heterozygoter häufiger Flecken mit dem Merkmal des näher am Kinetochor gelegenen Faktors (*forked*) als solche mit dem Merkmal des distaler gelegenen (*yellow*). Friesen diskutiert als die beiden in Frage kommenden Alternativen den Verlust eines terminalen oder den eines interkalaren Chromosomenabschnittes und kommt zu dem Schluß, daß beide Ereignisse etwa gleich häufig auftreten. Shapiro zieht zwar die Möglichkeit somatischen Austausches in Betracht, schreibt aber den Deletionen die größte Rolle bei der Fleckentstehung zu.

Daß die Flecken der von ihnen beobachteten Faktorenzusammensetzung prinzipiell auch durch *somatischen Austausch* entstehen können, hat Stern (1936) gezeigt. Hierbei werden die distal vom Austauschort liegenden Chromosomenstücke reduktionell verteilt und dadurch in beiden Tochterzellen homozygot. Die besondere Häufigkeit, mit der *forked*-Flecken gegenüber *yellow*-Flecken entstehen, läßt sich aus dem besonderen Verhalten der Chromosomen bei induziertem Austausch erklären. Nach Friesen (1937) ist nämlich bei röntgeninduziertem spermatogonialem Austausch, der aus dem gruppenweisen Auftreten jeweils zweier komplementärer Faktorenkombinationen unter den Ausnahmetieren der Rückkreuzungsnachkommenschaft eines bestrahlten, für mehrere gekoppelte Markierungsfaktoren heterozygoten Männchens zu erschließen ist, die Kinetochorenregion weit stärker als beim normalen meiotischen Austausch beteiligt. Es mag also ein bevorzugter Doppelaustausch beiderseits des *forked*-Locus die Ursache für das häufige Auftreten reiner *forked*-Flecken, Einfachaustausch proximal vom *forked*-Locus für *yellow-forked*-Flecken sein. Whittinghill (1951) fand, daß auch nach Behandlung von *Drosophila*-Weibchen mit γ-Strahlen die in der Nachkommenschaft zu beobachtende Austauschrate in der Nähe des Kinetochors stark, in den angrenzenden Bereichen weniger stark erhöht war und an den distalen Enden des Chromosoms etwas hinter der Kontrolle zurückblieb.

Lefevre (1949) machte die Beobachtung, daß nach Behandlung von 28 Std alten w^+/w-Larven mit 1300 r bei den Imagines 65% Mosaikflecken auftraten, nach Bestrahlung Inversionsheterozygoter ($+/sc^8$ *dl-49* w^a) nur 6%. Der Unterschied ist wenigstens zum Teil wohl sicher, so wie es Lefevre tut, damit zu erklären, daß somatischer Austausch bei der Fleckentstehung wesentlich beteiligt ist.

Nach dem Gesagten sind also neben dem kleinen Prozentsatz von Genmutationen mindestens ganz überwiegend entweder Chromosomenstückverlust oder somatischer Austausch der Weg, auf dem nach Bestrahlung Heterozygoter Mosaikflecken entstehen.

Es wurde daraufhin ein Versuch angesetzt, bei dem *einerseits Austausch, andererseits Chromosomen- oder Genmutation als Ursachen der Fleckentstehung grundsätzlich* in jedem Einzelfall *zu unterscheiden* sind. Dies ist bei Verwendung von Markierungsfaktoren verschiedener Loci nicht möglich, wohl aber, wenn man von einem Compound mit intermediärer Merkmalsausbildung ausgeht. In diesem Falle werden Einzelflecken mit dem Merkmal des einen oder des anderen mutanten Allels auf Genmutation oder auf Chromosomenstückverlust als Folge

von Bruchereignissen schließen lassen, während Zwillingsflecken aus zwei aneinandergrenzenden Bereichen mit dem Merkmal je eines der beiden mutanten Allele durch somatischen Austausch entstanden sein müssen (s. Abb. 1 in BECKER 1957).

Die bestrahlten Tiere hatten die Konstitution *w sn*$^+$/*w*^{co} *sn*; *se h*/*se h*. Der Faktor *singed* (*sn*) hat für diesen Versuch nicht unmittelbar Bedeutung. Das sehr dunkle *white*-Allel *white-coral* (*w*^{co}) wurde benutzt, weil der *w*/*w*^{co}-Compound eine gute intermediäre Ausfärbung des Auges zeigt. Der Faktor *sepia* (*se*) diente zur Verstärkung der auftretenden Kontraste. Nach MAINX (1938) und MAAS (1948) nimmt nämlich innerhalb der *w*-Allelenserie von den hellen zu den dunkleren Allelen der Anteil der Rotkomponente an der Pigmentierung des Auges zu, der Komponente also, die durch *se* in ein tiefbraunes Pigment verwandelt wird. Während die hellen *w*-Allele kaum rotes Pigment haben, besitzen die *w*^{co}-Tiere soviel davon, daß *w*^{co}/*w*^{co}; *se*/*se*-Tiere kaum von +/+; *se*/*se*-Tieren zu unterscheiden sind. Auch *w*/*w*^{co}; *se*/*se*-Augen erreichen im Alter ein sehr dunkles Braun. Das Nachdunkeln geht aber wesentlich langsamer vor sich als beim *w*^{co}/*w*^{co}; *se*/*se*-Auge. Dadurch ist der Kontrast zwischen den rotbraunen *w*/*w*^{co}; *se*/*se*-Augen einerseits und den beiden möglichen Mosaikflecktypen andererseits in den ersten Tagen nach dem Schlüpfen der Tiere relativ gut erkennbar. Am stärksten wird der Kontrast, wenn sehr alte Imagines kurze Zeit in Alkohol gelegen haben.

Zur Herstellung der reinen Ausgangsstämme *w sn*$^+$; *se h* und *w*^{co} *sn*; *se h* wurde ein *se*-Stamm benutzt, der gleichzeitig den sehr eng (0,5 Morgan-Einheiten) mit *se* gekoppelten Faktor *hairy* (*h*) enthielt. Da *w*; *se*-Tiere nämlich weißäugig sind, erleichtert *h* das Erkennen des *se*-Chromosoms.

Es wurden Eier sowie Larven des 1. und 2. Stadiums bestrahlt. Die sich daraus entwickelnden Imagines wurden zunächst in Luft und anschließend in Paraffinöl untersucht. Die Temperatur, bei der die Tiere ihre Eier legten, und bei der sowohl Eier wie Larven bis zur Bestrahlung gehalten wurden, war bei diesem Versuch durch Versehen 26° C. Durch die Temperaturerhöhung ist das Ende des 1. Larvenstadiums etwa 2 Std früher erreicht worden als bei den in 25° C angestellten Versuchen, also 19 Std nach dem Schlüpfen.

Der Versuch ergab bei Bestrahlung der verschiedenen Altersstufen im ganzen 483 Flecken, und zwar 336 Zwillingsflecken, 115 weiße und 32 dunkelbraune Einzelflecken. Das Auftreten von Zwillings- und Einzelflecken in vergleichbarer Häufigkeit beweist, daß *sowohl somatischer Austausch wie Mutationen an der Fleckentstehung wesentlich beteiligt* sind. Die letzteren müssen bei der Seltenheit der Genmutationen (S. 340) überwiegend Chromosomenmutationen sein.

Auffallend ist, daß unter den Einzelflecken die weißen häufiger sind als die dunklen. Der Grund hierfür ist offenbar nicht eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit homozygoter *w*/*w*-Zellen, denn ein Größenvergleich der beiden Partner einer größeren Anzahl von Zwillingsflecken zeigt, daß die dunklen Flecken in der Größe den weißen gegenüber nicht deutlich benachteiligt sind. So ist die mittlere Ommatidienanzahl bei 290 Zwillingsflecken für den weißen Partner 20,5 und für den dunklen 18,8. Unwahrscheinlich ist auch eine unterschiedliche Entstehungshäufigkeit beider Flecksorten, sei es infolge besserer Lebensfähigkeit der durch Chromosomenmutationen entstandenen hemizygoten *w*-Zellen oder infolge leichterer Bruchauslösung im *w*- als im *w*^{co}-Chromosom. Eine wesentliche Fehlerquelle ist aber jedenfalls dadurch gegeben, daß in den untersuchten Augen dunkelbraune Flecken sich leichter der Beobachtung entziehen.

Aus dem Ausfall des Compound-Versuches ergibt sich für den Versuch mit Bestrahlung von *w*$^+$/*w*-Heterozygoten, daß die dort allein auftretenden Einzelflecken zwei verschiedenen äußerlich nicht unterscheidbaren Typen angehören. Sie sind teils durch Mutation entstanden, teils stellen sie den allein erkennbaren *w*-Partner eines Zwillingsfleckes dar. Die durch Mutation entstandenen *w*$^+$-Ommatidien sind gleichfalls nicht zu erkennen. Es wäre daher zu erwarten, daß

nach gleicher Bestrahlung gleicher Altersklassen die Häufigkeit der Zwillingsflecken und der weißen Einzelflecken des Compound-Versuches zusammengenommen gleich der Häufigkeit der weißen Flecken im w^+/w-Versuch wäre. Ein Vergleich der Ordinatenwerte der Kurve Abb. 3 mit denen der oberen Kurve der Abb. 4 zeigt aber, daß die Werte des Compound-Versuches um etwa 25% tiefer liegen. Danach muß angenommen werden, daß bei den w/w^{co}-Tieren auch noch von den weißen und den Zwillingsflecken ein Teil übersehen wurde. Das ist tatsächlich sehr leicht möglich bei den kleinen randständigen Flecken, denn die Pigmentierung der Augen wird durch die *w*-Allele besonders in den distalen Teilen der Ommatidien reduziert. Dadurch erscheint der Augenrand auch in Gegenwart von *se* so hell, daß kleine weiße Flecken in diesem Gebiet kaum auffallen.

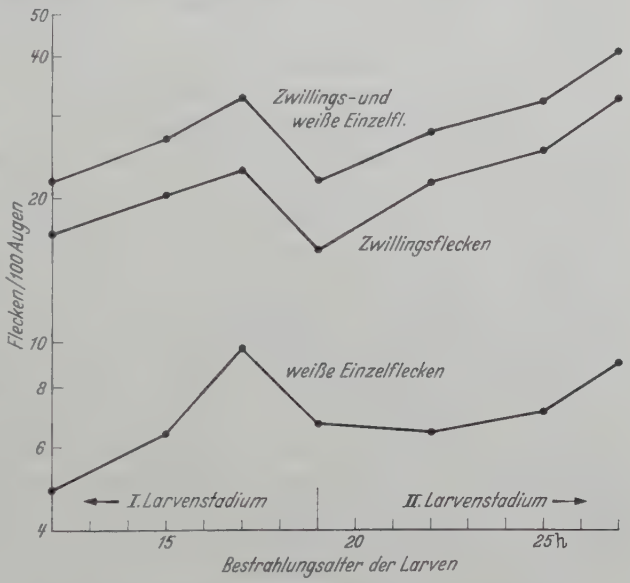

Abb. 4. Die Abhängigkeit der Mosaikfleckenhäufigkeit bei $w\ sn^+/w^{co}$ *sn*; *se h se h*-Weibchen vom Bestrahlungsalter. Ordinate: Anzahl der Flecken je 100 Augen; Abszisse: Bestrahlungsalter der Larven (Stunden). Zuchttemperatur 26° C. Bestrahlungsbedingungen s. Tabelle 2

Will man nun an Hand des Compound-Versuches eine Angabe machen über den *Anteil der verschiedenen Mechanismen an der Fleckentstehung*, dann ist sie mit dem geringsten Fehler behaftet, wenn man bei der Bestimmung der Häufigkeit der Einzelflecken nicht die Summe der beobachteten weißen und braunen Flecken, sondern die doppelte Anzahl der weißen zugrunde legt. Weiterhin wird man annehmen dürfen, daß sich der durch Beobachtungsschwierigkeiten übersehene Teil der weißen und der Zwillingsflecken auf diese beiden Typen ungefähr ihrer Häufigkeit entsprechend verteilt. Dann repräsentiert das Verhältnis der gefundenen 336 Zwillingsflecken zu der doppelten Anzahl der gefundenen weißen Einzelflecken, 230, einigermaßen die gesuchten Anteile. Danach würden bei Compound-Bestrahlung, wenn alle Flecktypen gleich erkennbar wären, *etwa 60% der Flecken durch somatischen Austausch, der Rest zum größten Teil durch Chromosomenmutationen und ein kleiner Prozentsatz durch Genmutationen* entstehen. Der Anteil der durch Austausch entstandenen Flecken muß wohl noch etwas erhöht werden, da ein kleiner Teil randständiger Einzelflecken in Wahrheit Zwillingsflecken sind, von denen ein Partner außerhalb des Auges liegt. Vier von diesen Flecken konnten daran erkannt werden, daß neben einem randständigen weißen Augenfleck *sn*-Borsten auf dem Kopfepithel standen, also das Merkmal des Faktors, den das w^{co}-Chromosom dieses Versuches führt.

Von den bei w^+/w-Tieren ausgelösten weißen Flecken sind dann 75% durch somatischen Austausch bedingt.

Abb. 4, in welcher die Fleckhäufigkeiten für die einzelnen Altersklassen aufgetragen sind, zeigt, daß die Summe der Zwillings- und der weißen Einzelflecken des Compound-Versuches sich genau so verhält wie die weißen Flecken des w^+/w-Versuches in Abb. 3. (Die offenbar nur sehr unvollständig erfaßten dunkelbraunen Einzelflecken sind hier nicht berücksichtigt.) Auch hier steigt die Häufigkeit der Flecken nicht anhaltend an, sondern fällt in den letzten Stunden des Larvenstadiums ab. Sondert man nun das Material des Compound-Versuches nach Zwillings- und Einzelflecken, so zeigt sich, daß dies Verhalten sicher bei der Kurve der Zwillingsflecken allein vorliegt (Abb. 4). Oben (S. 339) wurde aus dem Verhalten der Fleckhäufigkeitskurve im Vergleich mit der zeitlichen Änderung der Zellteilungstätigkeit der Schluß gezogen, daß die Fleckauslösung im ganzen bevorzugt in den Frühstadien der Mitose stattfindet. Dies gilt also nun jedenfalls für die Zwillingsflecken und entspricht auch ihrer Entstehung durch somatischen Austausch, der an die Frühstadien der Mitose gebunden ist. Wenn die Abnahme der Fleckhäufigkeit am Ende des 1. Larvenstadiums für die Einzelflecken gleichfalls real ist und auch für sie eine bevorzugte Entstehung in den Frühstadien der Mitose anzeigt, so paßt dies zu der heute herrschenden Vorstellung, daß die Chromosomen der frühen Prophase und der Metaphase besonders zu Chromosomenmutationen disponiert sind (MULLER 1940, 1950).

Will man das vorliegende Material weiterhin zu einer Bestimmung der *Häufigkeit somatischer Austauschvorgänge* bei den gegebenen Bestrahlungsbedingungen und für einen bestimmten Zeitpunkt auswerten, so ist die Kenntnis der Anzahl der präsumptiven Augenzellen zu diesem Zeitpunkt erforderlich. Wie später (S. 359) gezeigt werden wird, hat man am Ende des 1. Stadiums mit etwa 20 präsumptiven Augenzellen in der Anlage zu rechnen. Von den rund 40 weißen Flecken, die in dieser Zeit je 100 Augen gefunden werden (Abb. 3), sind etwa 75%, also 30, durch Austausch entstanden. Danach sind 30 Flecken auf 2000 oder 1,5 Flecken auf 100 bestrahlte Zellen ausgelöst worden. Ein Mosaikfleck als Folge somatischen Austausches entsteht bei einfachem Austausch aber nur, wenn beide Austauschchromatiden in verschiedene Zellen, nicht aber, wenn sie in die gleiche Zelle gelangen. Auch die Möglichkeit bestimmter Typen von Doppel- und Mehrfach-Austausch, zur Fleckbildung zu führen, wird jeweils nur bei einer der beiden möglichen Chromatidenverteilungen realisiert. Demnach werden bei *Bestrahlung mit 1200 r in etwa 3% der Zellen des präsumptiven Augenbereiches unter den X-Chromosomen derartige Austauschvorgänge ausgelöst, die bei geeigneter Chromatidenspaltung zu Mosaikflecken führen.* Darüber hinaus ist noch mit einer Anzahl von Doppel- und Mehrfach-Austauschvorgängen zu rechnen, die niemals zu einem Mosaikfleck führen können. Dies und vor allem die Tatsache, daß der Austausch an ein Stadium gebunden ist, in dem sich vermutlich jeweils nur ein kleiner Prozentsatz der bestrahlten Zellen befindet, deutet auf die Möglichkeit hin, daß durch die Bestrahlung praktisch in allen Zellen, die sich in dem erforderlichen Stadium befinden, Austauschvorgänge ausgelöst werden.

Die *Frage des primären Ereignisses*, welches den Austausch zur Folge hat, ist bisher umstritten.

Parker (1948) nimmt für die beiden erforderlichen Brüche in 2 Chromatiden ein einziges Treffereignis an, doch bezeichnet er die von ihm nach Spermatogonienbestrahlung gefundene annähernd lineare Dosisabhängigkeit selbst als nicht gesichert. Die Ergebnisse von Friesen (1937) und Shapiro (1941) sprechen sogar gegen ein Eintreffereignis. Beide bestrahlten gleichfalls mit verschiedenen Dosen, und ihre Werte weichen von einer linearen Dosisabhängigkeit ab. Bei Shapiro ist die Abweichung gesichert. Auch der Befund von Lefevre (1947), daß die Häufigkeit der Fleckentstehung von der Dosisleistung abhängt, spricht gegen ein Eintreffereignis.

Andererseits spricht die Häufigkeit, mit der die Flecken auszulösen sind, aber auch gegen ein Ereignis, für das zwei unabhängige Brüche erforderlich sind. Nach Fano und Demerec (1941) treten nach Behandlung von Spermien mit 400 r in 1% der X-Chromosomen dominante Letalfaktoren als Folge von Einzelbrüchen auf; 1200 r würden folglich etwa 3% auslösen. Für die hier untersuchten somatischen Zellen darf man wenigstens der Größenordnung nach ähnliche Werte annehmen. Zwei Brüche in verschiedenen Chromatiden wären, wenn man den gleichen Wert annimmt, bei 0,09% der Zellen zu erwarten. Dabei könnten aber diese Brüche unabhängig voneinander an beliebigen Stellen liegen, und an zwei homologen Punkten gelegene würden mit einer noch ganz unverhältnismäßig viel geringeren Häufigkeit eintreten. Demnach liegt die Häufigkeit, mit der ein Austausch ausgelöst wird, mit mindestens 3% viel zu hoch, als daß man die Entstehung des Austausches auf ein Zweitreffereignis zurückführen dürfte.

Da die nichtlineare Dosisabhängigkeit und die Abhängigkeit der Fleckentstehung von der Dosisleistung gegen ein Eintreffereignis und die Häufigkeit des Auftretens der Flecken gegen ein Zweitreffereignis sprechen, wird die *Rückführung strahleninduzierten Austausches auf trefferbedingte Bruchereignisse* sehr *in Frage gestellt*. Es ist denkbar, daß durch Röntgenbehandlung in den Zellen ein physiologischer Zustand geschaffen wird, der ähnlich dem durch *Minute*-Faktoren bedingten (Stern 1936) eine grundsätzlich vorhandene Fähigkeit somatischer Zellen zum Faktorenaustausch in Erscheinung treten läßt.

c) Die Größe der Mosaikflecken

Nach Behandlung einer bestimmten Altersklasse erhält man *Flecken von sehr verschiedener Größe*. Um bei der Erfassung der Variabilität den Zuwachs der Anlage in Teilungsschritten zu berücksichtigen, wurden Klassen gebildet, welche jeweils die zwischen 2 Zweierpotenzen gelegenen Ommatidienanzahlen umfaßten. Die Zweierpotenzwerte selbst wurden dabei stets zur niedrigeren Klasse gerechnet. Es ergab sich eine Verteilung, wie sie in Abb. 5 an 2 Beispielen für das Bestrahlungsalter von 17—23 Std wiedergegeben ist. Die mittlere Größe der Zwillingsflecken aus dem Compound-Versuch (Kurve w/w^{co}) ist etwa doppelt so hoch wie die der Flecken aus dem w^+/w-Versuch (Kurve w^+/w). Das ist verständlich, da mindestens bei den durch Austausch entstandenen Flecken des w^+/w-Versuches nur eine der beiden Tochterzellen einer bestrahlten Zelle einen Fleck ausbildet.

Die weißen Flecken des w^+/w-Versuches variieren ihrer Größe nach über 7, die Zwillingsflecken des Compound-Versuches über 6 Größenklassen. Das bedeutet, daß die Teilungsintensität der einen Fleck bildenden Zellen um 6—7 Teilungsschritte variiert. Inwieweit hierbei eine unterschiedliche Beeinflussung durch die teilungshemmende Wirkung der Röntgenstrahlen im Spiel ist, läßt sich nicht entscheiden. Die bis zu 6 Std betragenden Altersunterschiede der behandelten Tiere können bei der Dauer eines Mitosezyklus von schätzungsweise 8 Std (Abb. 2) eine Variation über 2 Größenklassen bedingen. Dazu wird eine individuelle Variabilität der Entwicklungsgeschwindigkeit treten, die bei der

Lage des Nullpunktes der Altersbestimmung rund 20 Std vor dem Versuch die Variationsbreite der Anzahl der Teilungsschritte allenfalls weiterhin um 1 erhöhen kann.

Als weiterer Variationsfaktor kommt eine regionale Verschiedenheit der Teilungsintensität der präsumptiven Augenzellen in Frage. Er kommt am reinsten zum Ausdruck bei den Zwillingsflecken, da hier die Alters- und die individuellen Unterschiede der Versuchstiere ausgeschaltet sind. Auszählungen der Ommatidienanzahlen an 34 im 1. Larvenstadium ausgelösten Zwillingsflecken, bei denen der eine Partner in der hinteren Augenmitte, der andere außerhalb dieses Gebietes lag, ergaben, daß die Größe des ersten durchschnittlich 0,41 der

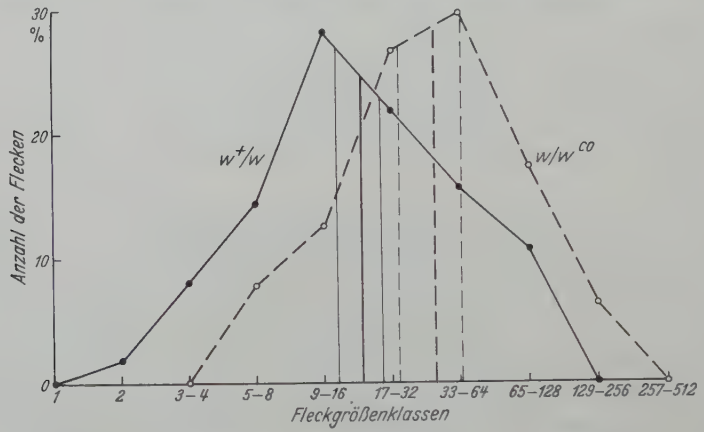

Abb. 5. Variationskurve der Fleckgrößen nach Bestrahlung 17—23 Std alter Larven. Ausgezogene Kurve: Weiße Flecken des w^+/w-Versuches ($n = 164$); gestrichelte Kurve: Zwillingsflecken des w/w^{co}-Versuches ($n = 64$). Die Mittelwerte und die Spielräume der wahren Mittelwerte ($M \pm 3m$) sind eingetragen

Größe des zweiten beträgt, also weniger als die Hälfte, aber deutlich mehr als ein Viertel (Tabelle 4). Danach bestehen von dem untersuchten Altersstadium an Unterschiede in der Teilungsintensität zwischen verschiedenen Regionen der Augenanlage von 1—2 Teilungsschritten.

Betrachtet man die jeweiligen beiden Partner von allen 290 im 1. und 2. Stadium ausgelösten Zwillingsflecken, dann zeigt sich, daß sie bei 53,0% der gleichen Größenklasse, bei 38,5% zwei benachbarten Größenklassen angehören und bei 8,5% um mehr als eine Größenklasse verschieden sind. Die Unterschiede, die hier zum Ausdruck kommen, beruhen jedenfalls zum Teil auf den festgestellten regionalen Verschiedenheiten der Teilungsintensität in der Augenanlage. Daneben ist aber auch noch ein weiterer Faktor beteiligt, denn man findet an entsprechenden Stellen verschiedener Augen Zwillingsflecken von zum Teil stark verschiedener Größe in regellos wechselnder Lage.

Die *Veränderung der Fleckgröße mit dem Bestrahlungsalter der Larven* sollte, wenn man nicht mit einer Beeinflussung der Teilungsintensität durch die Behandlung zu rechnen hat, ein Bild von der Teilungsintensität des präsumptiven Augenbereichs ergeben. Die mittlere Ommatidienanzahl der weißen Flecken des w^+/w-Versuches ist bei Behandlung zu Beginn des 1. Stadiums (22,5 Std) $M \pm 3m = 20{,}1 \pm 7{,}5$ Ommatidien und zu Beginn des 2. Stadiums (45,5 Std) $4{,}6 \pm 0{,}7$ Omma-

tidien. Diese Fleckgrößenabnahme entspräche durchschnittlich 2 Teilungsschritten. Vergleicht man diesen Befund aber mit der Zunahme der Zellenanzahl der ganzen Kopfanlage, für die im Mittel mindestens 3 Teilungsschritte für den gleichen Zeitabschnitt gefunden wurden, dann ergibt sich eine der bei der Behandlung der Fleckhäufigkeit (S. 340) besprochenen entsprechende Diskrepanz. Demgemäß ist auch hier die nächstliegende Erklärungsmöglichkeit, daß die Teilungsintensität im präsumptiven Augenbereich geringer ist als in den übrigen Teilen der Kopfanlage. Das wäre verständlich, da ja gefunden wurde, daß ein Gebiet geringster Teilungsintensität innerhalb des Auges, und zwar in seiner hinteren mittleren Region, liegt. Außerdem würden auch die genannten anderen Möglichkeiten, nämlich das Übersehen von spät ausgelösten kleinen Flecken und ein durch die teilungshemmende Wirkung der Röntgenstrahlen bedingter Ausfall der Ommatidienbildung bei einem Teil der spät bestrahlten Zellen, beide die mittlere Fleckgröße der spät ausgelösten Flecken erhöhen. Wenn ferner bei der teilungshemmenden Wirkung der Röntgenstrahlen mit einem Effekt zu rechnen ist, der sich länger über die der Bestrahlung folgende Entwicklungszeit hinzieht, dann kann daraus ebenfalls eine Verminderung der Differenz der Fleckgrößen resultieren, da die Hemmung nach früher Bestrahlung länger wirksam sein kann als nach später.

3. Die Entwicklungsphysiologie des Auges

a) Die bisherigen Untersuchungen

Die Entwicklungsphysiologie imaginaler Organe von *Drosophila* wurde bisher hauptsächlich auf 3 Wegen untersucht. Erstens hat man durch *Transplantation* intakter Anlagen oder bestimmter Anlagenteile die Entwicklungspotenzen der Transplantate in Abhängigkeit vom Alter oder der genetischen Konstitution sowohl des Spenders als auch des Wirtes ermittelt. Zweitens ließ die *Störung der Normalentwicklung durch Außeneinflüsse* (Temperaturreize, chemische Einflüsse, Ernährung u. a.), die auf bestimmte Entwicklungsstadien einwirken, Schlüsse über die in der Reizzeit ablaufenden Entwicklungsvorgänge zu. Hierbei traten zum Teil Phänokopien nach bestimmten Mutationen auf, oder es wurde, bei Reizung von Mutanten, die Normalentwicklung wieder hergestellt. Beides vermittelte Einblicke in die Wirkung genotypischer Entwicklungsfaktoren. Drittens wurden *Mosaiktiere*, deren Auftreten auch durch bestimmte genotypische Faktoren zu begünstigen ist, mit dem Ziel analysiert, über die Wirkung bestimmter Gene Aufschluß zu bekommen.

Transplantationsexperimente ergaben, daß die *Kopfanlage von Drosophila zu Beginn des 2. Larvenstadiums kein harmonisch äquipotentielles System* ist, *sondern unterteilt in eine Anzahl von Selbstgliederungsfeldern*, die bereits auf ihr späteres Entwicklungsschicksal festgelegt sind (Vogt 1946). Teile der Anlage in das Abdomen gleichalter Wirte gebracht, entwickelten sich nur zu solchen Kopfteilen, deren Feldbereich ganz oder teilweise im Transplantat vertreten war. So bildete das hintere Drittel der Kopfanlage junger Larven des 2. Stadiums von *D. hydei* in 33 von 36 Fällen lediglich Ommatidien, also keine Antennen und keine Ozellen. Dieses Feld nennt M. Vogt Facettenfeld; es soll hier lieber als Ommatidienfeld bezeichnet werden.

Die einzelnen Felder zeigen bei Verletzung auch *Regulationserscheinungen*. Die beiden Hälften einer durch das Ommatidienfeld längsgeteilten Kopfanlage bilden zusammen bis zu 46% mehr Ommatidien als die zur Kontrolle implantierte intakte Anlage. Auch die Bildung von 3 statt $1^1/_2$ Ozellen in einem angeschnittenen Ozellenfeld hat den Charakter einer Regulationserscheinung. In der Mitte des

3. Stadiums klingen die Regulationsleistungen ab. Das Auftreten der Regulationsleistungen zeigt, daß jedenfalls *bis zur Mitte des 3. Stadiums über den Umriß des Imaginalauges noch nicht endgültig entschieden* sein kann.

Die *Analyse der Augenformmutante Bar* (*B*) ließ Schlüsse zu über die Zeit und die Art der Festlegung des Augenumrisses.

Bar ist pleiotrop. Die Kopfanlagen der Tiere sind schon zu Beginn des 2. Stadiums kleiner als die der normalen. Darüber hinaus wird in der verkleinerten Kopfanlage kein normal proportioniertes Auge gebildet, sondern nur ein senkrecht verlaufendes Band von Ommatidien. Nach DANNEEL und HANNES (1951) ist die relative Augenbreite, d. h. das Verhältnis der Augenbreite zur Breite des das Auge umstehenden Borstenkranzes, bei *Bar*-Tieren 22% gegenüber 80% bei normalen. Es liegt danach nahe anzunehmen, daß das Gebiet innerhalb des Borstenkranzes das Ommatidienfeld der *Bar*-Kopfanlage verkörpert, welches aber nur zu einem kleinen Teil Ommatidien gebildet hat.

Die eine Wirkung des Faktors *Bar*, nämlich die *Verringerung der Ommatidienanzahl innerhalb eines gegebenen Ommatidienfeldes*, ist durch Außeneinflüsse zu modifizieren. Verfüttert man nämlich an *B*/*B*-Larven in der 1. Hälfte des 3. Stadiums *Calliphora*-Extrakt (CHEVAIS 1944), oder bringt man die sonst bei 25° C gehaltenen Tiere zu dieser Zeit in eine Temperatur von 16° C (VOGT 1947), dann bildet ein wesentlich größerer Teil des Ommatidienfeldes Ommatidien. Diese Augenvergrößerung geht deshalb sicher auf Kosten des Kopfepithels, weil weder *Calliphora*-Extraktverfütterung (CHEVAIS 1944) noch Temperaturbehandlung (STEINBERG 1941a) die Größe der Kopfanlage verändern. Die erwähnten Angaben von STEINBERG und M. VOGT über die Lage der temperatursensiblen Periode für den Faktor *Bar* stimmen mit denen von DRIVER (1926) und MARGOLIS (1935) überein.

Auch mit anderen Agenzien ist die von *Bar* veränderte Ommatidienanzahl zu beeinflussen: O_2-Behandlung der Larven vergrößert *Bar-infrabar*-Augen (LUCE 1940) und *Bar*-Augen (MARGOLIS 1939); Röntgenbehandlung der Larven verkleinert *Bar*-Augen (LUCE, QUASTLER und CHASE 1951). In diesen Fällen ist der Einfluß auf die Größe der Kopfanlage nicht nachgeprüft; die Wirksamkeit der Agenzien beschränkt sich aber auch hier auf den Zeitraum der sensiblen Periode in der 1. Hälfte des 3. Stadiums.

Bis hierher zeigt die Analyse des einen Teiles der *Bar*-Wirkung, daß *über die Ausdehnung des Auges im Bereich eines gegebenen Ommatidienfeldes nicht vor der Mitte des 3. Stadiums endgültig entschieden* wird. Die von STEINBERG (1943) gemachte Beobachtung, daß die Vorläufer der späteren Ommatidien als Gruppen von je 4 Zellen zuerst in den Anlagen der 72stündigen Larven beobachtet werden, steht damit im Einklang.

Die mit der Mosaikmethode an *Bar*-Tieren gewonnenen Ergebnisse (DE MARINIS 1943 und 1952) lassen gewisse Aussagen zu über die Art der Festlegung des Augenumrisses. Bei w^+B/wB^+-Tieren, die in bezug auf *Bar* intermediär sind, bewirken am Augenvorderrand durch einfachen somatischen Austausch proximal von der *Bar*-Region entstandene wB^+/wB^+-Mosaikflecken eine Ausbuchtung des Randes nach vorn, bei w^+B^+/wB-Tieren bewirken durch den gleichen Vorgang entstandene wB/wB-Flecken seine Einbuchtung nach hinten. Bei diesen Tieren lassen Flecken der gleichen Konstitution, die am Hinterrand des Auges liegen,

die Umrißlinie des Auges unverändert. Dementsprechend findet man auch bei genetisch einheitlichen *B*-Heterozygoten den Augenhinterrand ungefähr in seiner normalen Region, während der Vorderrand nach hinten verlagert erscheint. Es handelt sich also bei dem *Grenzziehungsvorgang* am Ende des 3. Larvenstadiums entweder um einen im Auge *von hinten nach vorn fortschreitenden Prozeß oder um die Schaffung eines in gleicher Richtung verlaufenden Gefälles abnehmender Reaktionsfähigkeit der Zellen* gegenüber einem zur Ommatidienbildung nötigen Faktor.

Die 2. Wirkung der Mutation *Bar*, die *Herabsetzung der Kopfanlagengröße* liegt zu einem früheren Zeitpunkt. *Bar*-Kopfanlagen wachsen nämlich im 2. und 3. Larvenstadium genau so schnell wie normale, sind aber am Anfang des 2. Stadiums, dem frühesten untersuchten Zeitpunkt, schon kleiner als diese letzten (Steinberg 1941a, Chevais 1944). Zu diesem Zeitpunkt hat also der *Bar*-Faktor seinen Einfluß auf die Größe des Kopfes schon ausgeübt. Wird durch Zusatz von *Calliphora*-Extrakt zum Futter die unmittelbare Wirkung des *Bar*-Faktors auf die Augengröße ausgeschaltet, so erreicht das Auge bei normaler Form nur eine proportional zu der Verkleinerung des Kopfes verringerte Größe, bei Männchen mit einer maximalen Ommatidienanzahl von 600—650 (Chevais 1943), gegenüber einer normalen Anzahl von 700—750. Bei *Bar*-Mosaikversuchen der oben beschriebenen Art befanden sich unter den $w^+ B/w B^+$-Heterozygoten 2 Tiere, bei denen der Austausch proximal von der *Bar*-Region so früh stattgefunden hatte, daß das ganze Auge $w B^-/w B^+$ war (Hersh und De Marinis 1938). Auch diese Augen zeigten bei normaler Form nur 500 bzw. 537 Ommatidien.

Von den Untersuchungen an anderen bekannten Augenformmutanten tragen die von Steinberg (1944) an *Lobe*-Allelen und von Vogt (1947) an $Dfdr^{-L}$ zur Entwicklungsphysiologie des Auges bei.

Tiere der *Lobe-Allelen-Serie* haben mit *Bar*-Tieren eine verkleinerte Kopfanlage (Medvedev 1935) und eine verringerte Ommatidienanzahl gemeinsam. Steinberg (1944) fand bei den *Lobe*-Allelen L^2, L^4 und L^5 für die Ommatidienanzahl einen größeren Variationskoeffizienten und eine geringere Korrelation zwischen den beiden Körperseiten als für die Größe der Kopfanlage. Die relative Unabhängigkeit der Ommatidienanzahl von der Größe der Kopfanlage, die sich hierin ausspricht, sowie die gleichzeitige Wirkung auf Kopf- und Augengröße betrachtete er als Anzeichen für eine *Bar*-ähnliche Wirkung der *Lobe*-Allele. Indessen zeigt schon ein morphologischer Vergleich zwischen *Bar*- und *Lobe*-Augen, daß sie sich erheblich voneinander unterscheiden. Während, wie oben geschildert, die kleinsten *Bar*-Augen dorsoventral gerichtete Bänder sind und jede Vergrößerung des Auges eine Vorverlegung seines Vorderrandes bedeutet, wird bei den *Lobe*-Allelen von der Augenverkleinerung zunächst die untere Augenhälfte betroffen. Ferner haben die *Lobe*-Allele zwei temperatursensible Perioden (Vogt 1947), eine am Beginn des 1., die andere am Ende des 2. Larvenstadiums. Später (S. 364) soll versucht werden, nähere Aussagen über die Wirkungsweise der *Lobe*-Allele zu machen.

Die *Mutation* $Dfdr^{-L}$ verändert den Umriß des Auges ähnlich wie *Lobe*. Ferner kann nach M. Vogt die Augenform bei dieser Mutation durch Kältebehandlung beeinflußt werden. Nach Behandlung von Larven des beginnenden 1. Stadiums bleibt die untere Augenhälfte in ihrer Entwicklung zurück, während sie nach Behandlung der Larven am Ende des 2. Stadiums zwar schmal, aber weit nach

unten hin ausgewachsen ist. In dieser letzten Wirkung kann man einen Hinweis auf die Bedeutung bestimmt gerichteter Teilungen in der Entwicklung des Auges sehen.

b) Die Lage, Größe und Form der Mosaikflecken

Um die *Mosaikflecken nach ihrer Lage, Größe und Form entwicklungsphysiologisch auswerten* zu können, wurden sie in Umrißskizzen, die der Arbeit von CASTEEL (1929) entnommen sind, eingetragen (Abb. 6). Die Anzahl der Ommatidien auf dieser Skizze beträgt 835 und stimmt damit mit den mittleren Ommatidienanzahlen der Augen bei 25° C gehaltener Weibchen gut überein (KRAFKA 1920: 860, ZELENY 1923: 850, STEINBERG 1941b: 746 und 833 bei zwei verschiedenen Wildstämmen). Der Verlauf der Ommatidienreihen weicht in der Skizze von dem tatsächlichen Bild etwas ab durch die Übertragung der charakteristischen gewölbten Augenoberfläche in die Ebene. Am vorderen Augenrand weicht die Augenskizze von dem tatsächlichen Bild nicht merklich ab. Längs dieses Randes verläuft in der Skizze eine senkrechte Ommatidienreihe, deren Richtung und Länge gut mit den natürlichen Verhältnissen übereinstimmen. In den beobachteten Augen liegen in dieser Reihe 9—12 Ommatidien; gelegentlich stehen noch 2 oder 3 Ommatidien davor. Der Sechseckform der Ommatidien entsprechend verlaufen vom Vorderrand des Auges aus 2 Ommatidienreihen unter einem Winkel von 60° schräg nach oben bzw. schräg nach unten. Diese beiden Verlaufsrichtungen sowie auch diejenige, die durch die Spitzen der Sechsecke vom Vorderrand durch die Mitte des Auges zum Hinterrand zu verfolgen ist, stimmen für den Hauptteil des Auges in der Skizze mit dem natürlichen Bild ebenfalls gut überein. Gewisse geringe Abweichungen ergeben sich vor allem am oberen und unteren Teil des Augenhinterrandes.

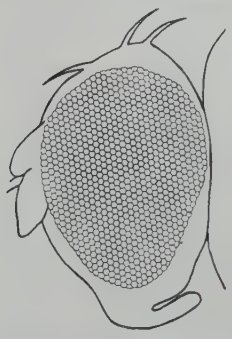

Abb. 6. Schematische Abbildung des Facettenmusters im Auge (aus CASTEEL 1929)

Die Bestimmung der Lage der Flecken bei ihrer Übertragung auf die Skizze wurde bei größeren Flecken stets von der vorderen Augenmitte aus begonnen. Da die Ommatidienanzahl der vorderen Ommatidienreihe variiert, die Lage des Auges bezogen auf die der Antenne aber sehr konstant ist, wurde der Ansatz des letzten Antennengliedes als Ausgangspunkt genommen. Von dort aus wurden einige charakteristische Punkte der Flecken bestimmt, indem für jeden von ihnen längs einer durch den Ausgangspunkt gelegten Horizontalen die Anzahl der Ommatidienreihen bis zu derjenigen, welcher der festzulegende Punkt angehört, sowie innerhalb dieser letzten die Anzahl der Ommatidien zwischen dem festzulegenden Punkt und der Horizontalen abgezählt wurden. Bei der Verbindung der charakteristischen Punkte mußte, je weiter ein Fleck in das Gebiet des hinteren Auges hineinreichte, vom Verlauf der gegebenen Fleckgrenze im Vergleich zum Ommatidienreihenverlauf abgewichen werden.

Die erhebliche Variationsbreite der Fleckgröße in den einzelnen Reizaltersklassen (S. 345f.) läßt es geraten erscheinen, bei einer Auswertung der Mosaikflecken für die Entwicklung der Augenanlage die Flecken nicht nach Altersklassen sondern nach ihrer Größe zu ordnen.

Von den gefundenen Mosaikflecken nimmt keiner die gesamte Augenfläche ein. Bei den Flecken, die etwa die Hälfte oder einen noch größeren Teil des Auges bedecken, können die Grenzen sehr unterschiedlich durch das Auge verlaufen. Dennoch ist die Lage der Grenzen nicht willkürlich, sondern es ist immer eine *von vorn nach hinten durch die Mitte des Auges verlaufende Gerade* mehr oder weniger an der Grenze beteiligt. Bei 17 von 23 gefundenen Flecken der Größe von 220 und mehr Ommatidien bildet diese horizontale Gerade die obere (bei Flecken im unteren Auge; Abb. 7a, g) bzw. die untere Grenze (bei Flecken im oberen Auge; Abb. 7b). Die übrigen 6 Flecken erstrecken sich über beide Augenhälften (Abb. 7c und d). In der Mehrzahl der Fälle wird also entweder die obere oder die untere Hälfte des Auges von Nachkommen einer Zelle gebildet.

In dem in Abb. 7a gezeigten Auge bedeckt der Fleck fast die ganze untere Hälfte. Da er auch für den Faktor *singed* homozygot ist, kann man sehen, daß er nur wenig auf das Kopfepithel übergreift, denn von dem das Auge umgebenden

Abb. 7a—v. Mosaikflecken auf den Augen weiblicher Imagines nach Bestrahlung von Embryonen und von Larven des 1. und 2. Stadiums. Konstitution der Weibchen in a, b, e und f: $w^+ sn^+/w\ sn$; Konstitution aller übrigen: $w\ sn^+/w^{co}\ sn$; *se h/se h*. Alle auf einem rechten Auge liegenden Flecken wurden auf das linke Auge umgezeichnet

Borstenkranz ist nur eine der Borsten des unteren Augenrandes einbezogen. Hier deckt sich offenbar die untere Augenhälfte ungefähr mit der Nachkommenschaft einer Zelle. Bei dem Fleck der Abb. 7e ist das vordere obere Viertel des Auges weiß, und ein etwa ebenso großer Teil des angrenzenden Kopfepithels

ist mit *singed*-Borsten bestanden. Hier ist demnach nur die Hälfte der Nachkommen der veränderten Zelle an der Bildung des Auges beteiligt gewesen; die anderen liegen im Bereiche des Kopfepithels. Bei dem Fall Abb. 7f hat der größte Teil der Nachkommen einer markierten Zelle Kopfepithel mit *singed*-Borsten und nur ein schmaler Streifen Ommatidien gebildet.

Die Summe der jeweiligen Fleckanteile von Augenfläche und Kopfepithel entspricht in allen 3 Fällen etwa dem Bereich eines halben Auges. Das halbe Auge ist also hier der Nachkommenschaft einer Zelle, das ganze Auge der Nach-

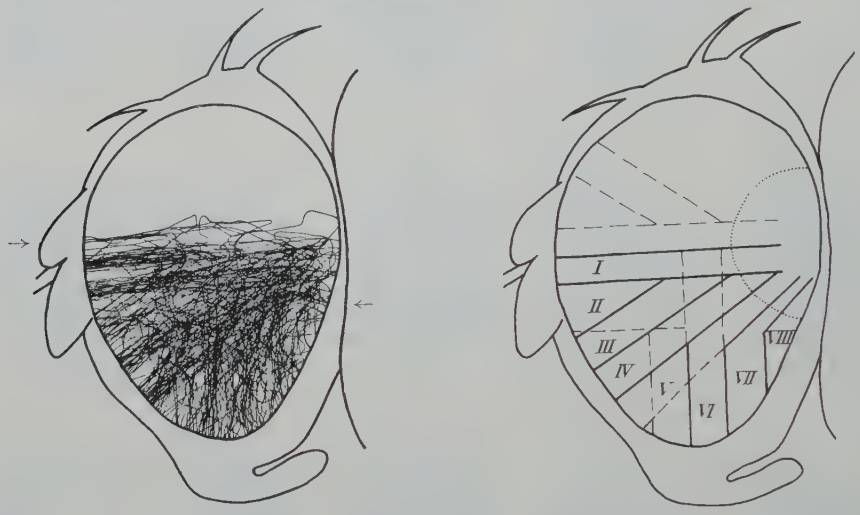

Abb. 8a u. b. a Die Grenzen aller Flecken der unteren Augenhälfte, die von der Mittellinie bis zum Augenrand reichen. b Die aus a gewonnene schematische Darstellung der Form, Größe und bevorzugten Lage der von den Zellen des präsumptiven unteren und vorderen Augenbereiches gebildeten Mosaikflecken. Ausgezogene dicke Linien: Bevorzugte Lage der Fleckgrenzen. Gestrichelte dünne Linien: Weniger häufig beobachtete Lage der Fleckgrenzen und bevorzugte Lage der Grenzen im oberen Augenbereich. Erklärung der Sektoren I—VIII s. Text. Punktiert abgegrenzt ist die erschlossene Region geringster Zellteilungstätigkeit in der Anlage

kommenschaft zweier Zellen äquivalent. Dieses Stadium soll als das Zweizellstadium des präsumptiven Augenbereiches bezeichnet werden. In Abb. 10a ist dieser Zustand schematisch angedeutet, wobei angenommen ist, daß der präsumptive Augenbereich sich gerade mit zwei ganzen Zellen deckt.

In allen bisher betrachteten Fällen ist die horizontale Mittellinie als bevorzugter Ort einer Fleckgrenze sichtbar. *Weitere bevorzugte Grenzorte* fallen vor allem *in der unteren Augenhälfte* auf. Die Regelmäßigkeit, die hier herrscht, wird deutlich, wenn, wie bei Abb. 8a geschehen, alle Flecken, die die Mittellinie und den Unterrand des Auges berühren, auf eine gemeinsame Augenskizze gezeichnet werden. Diese Flecken sind verschieden groß, dabei im allgemeinen nicht kleiner als etwa 40 Ommatidien.

Die Bilder der Flecken wurden willkürlich in 3 Gruppen geteilt; dann wurden die Flecken jeder Gruppe auf je ein Augenschema projiziert und gezeichnet. Die so entstandenen 3 Bilder wurden schließlich übereinander fotografiert.

Die *Fleckgrenzen* bevorzugen drei verschiedene Richtungen; sie verlaufen horizontal, vertikal oder von hinten oben nach vorn unten. Dabei sind die

einzelnen Flecken entweder streifenförmig (Abb. 7 m, p, r, t) oder keilförmig (Abb. 7 g, h) mit einer vorwiegenden Längserstreckung in der allgemeinen Richtung auf die Mitte des hinteren Augenteils. Im hinteren Augenteil treten geknickte Flecken auf, indem die parallel zueinander verlaufenden Grenzen zwei der bevorzugten Richtungen folgen (Abb. 7 k, weißer Fleckteil).

Außerdem ist *die Lage der Flecken nicht willkürlich*, denn Abb. 8 a zeigt in bestimmten Augenteilen eine Anhäufung der Grenzlinien. Um den Grad der Grenzlinienanhäufung noch zu verdeutlichen, wurde der untere Augenrand von

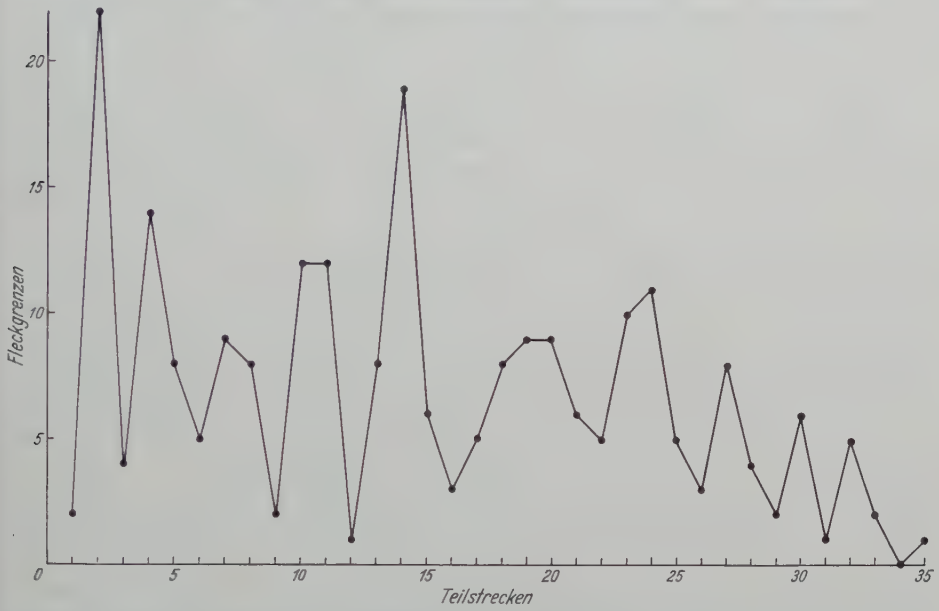

Abb. 9. Anzahl der Fleckgrenzen (Ordinate), die in 35 einzelnen Teilstrecken des unteren Augenrandes (Abszisse) den Rand erreichen

der vorderen zu der hinteren eingezeichneten Marke in 35 gleiche Strecken unterteilt. In Abb. 9 sind diese Teilstrecken als Klassen auf der Abszisse und die Anzahlen der je Teilstrecke den Augenrand treffenden Fleckgrenzen als Ordinatenwerte eingetragen.

Die Lage der Maxima zeigt, daß die Breite der Sektoren, die durch die Fleckgrenzenscharen gebildet werden, bei dem ersten 2 Längenklassen beträgt, bei dem zweiten, dritten und vierten 3—$3^1/_2$ und bei dem fünften, von den Maxima über den Abszissenwerten 14 und 19/20 eingeschlossenen Sektor, $5^1/_2$ Längenklassen. Wie Abb. 8 a zeigt, können den nachfolgenden Maxima kaum eindeutige Sektoren zugeordnet werden.

Die einzelnen *Sektoren* haben wegen der drei bevorzugten Grenzrichtungen in jedem Teil des Auges eine *charakteristische Form*. Abb. 8 b gibt davon ein schematisches Bild. Der unmittelbar unter der Mittellinie liegende Sektor I ist ein schmaler, horizontal liegender Streifen mit parallelen Seiten. Bei dem darunter liegenden Sektor II verläuft die untere Grenze meist in einem Winkel von etwa 35^0 zu der oberen, in einigen Fällen aber entsprechend der gestrichelt eingetragenen Linie parallel zu ihr. Die Seiten der beiden nächsten Sektoren, III und IV,

Tabelle 3. *Zusammenstellung aller Flecken, die von der Mittellinie des Auges bis zum unteren Augenrand reichen, eingeteilt nach ihrer Größe und ihrer Deckung mit den Sektoren der Abb. 8b.*

In Klammern Mehrsektorenflecken, die in einem späteren, zu anderem Zweck gemachten Versuch gefunden und im Text daher nicht berücksichtigt wurden.

Größe der Flecken in Sektoren	Sektor I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Σ
1	19	11	10	19	27	22	21	24	137
2		9		8		10 (1)			47
			6 (3)		8 (1)		6		
3			6 (3)		3				19
				4 (1)			2 (3)		
				4				(3)	
4			4 (2)			1			8
				3 (1)					
					(3)				
						(1)			
5			3 (1)						4
				1					
					(1)				
6				1 (1)					3
				1 (1)					
					1				
7				1 (1)					1
8									0
							10	21	31
					3	12		11	26
Summe der jeden Sektor bedeckenden Flecken	43	50	54	61	69	64	87	37	276

verlaufen unter ähnlichen Winkeln zur Mittellinie, untereinander also annähernd parallel. Der Sektor V ist sehr breit (s. oben) und kurz, denn seine hintere Grenze verläuft etwa rechtwinklig zur Mittellinie. Wegen der Schwierigkeit, den vier letzten Gipfeln in der Abb. 9 entsprechende Sektoren einigermaßen sicher zuzuordnen, soll der hintere Augenteil, um die charakteristischen Richtungen der Grenzverläufe im Schema darstellen zu können, zunächst willkürlich in Sektoren aufgeteilt werden, die in der Größe den vorderen Sektoren ähnlich sind. Hält man sich an die bevorzugten Grenzrichtungen der Abb. 8a, dann verlaufen die Grenzen der Sektoren VI und VII im typischen Falle vom Unterrand aus zu-

nächst senkrecht aufwärts und dann weiter um etwa 50° abgeknickt nach hinten. Der Sektor VIII liegt dem Hinterrand der unteren Augenhälfte an.

Die beobachteten Flecken entsprechen teils einzelnen Sektoren, teils Kombinationen aus mehreren Sektoren. Sie sind in Tabelle 3 nach den jeweils von ihnen besetzten Sektoren zusammengestellt, wobei die drei willkürlich abgegrenzten hinteren Sektoren mitbenutzt wurden. Für die auf dem Zweizellstadium des präsumptiven Augenbereiches ausgelösten Flecken wurde oben (S. 351f) gezeigt, daß ihre Lage im Vergleich zum Auge variieren kann. Hier zeigt sich nun, daß diese Variabilität insofern beschränkt ist, als die Grenzen auch hier bevorzugt auf den Sektorengrenzen liegen. Dabei können, wie die Tabelle 3 zeigt, die Flecken von der Größe mehrerer Sektoren offenbar grundsätzlich jede beliebige Kombination benachbarter Sektoren besetzen. So bedecken die Flecken von der Größe zweier Sektoren die Reihe von Kombinationen I/II, III/IV, V/VI und auch die andere Reihe II/III, IV/V, VI/VII. Für die größeren Flecken gilt entsprechendes.

Das Auftreten und die Lage der Einsektorenflecken läßt schließen, daß *in einem bestimmten Entwicklungsstadium eine in der allgemeinen Richtung etwa von vorn-oben nach hinten-unten verlaufende Reihe von Zellen die präsumptive untere Augenhälfte bildet.* Mit dem Ansatz von 8 Sektoren wurde die Anzahl dieser Zellen zunächst nur annähernd abgeschätzt. Um sie genauer zu bestimmen, muß festgestellt werden, wieviel Abschnitte des hinteren Teiles der unteren Augenhälfte tatsächlich den Sektoren des vorderen Teiles entsprechen. In der hinteren Region des Auges treten Einzelsektorenflecken häufiger, Flecken von der Größe mehrerer Sektoren aber seltener als in der vorderen auf. Dies läßt schließen, daß hier Flecken als Einsektorenflecken registriert wurden, die in Wahrheit mehrere Sektoren umfassen. Ferner können im hinteren Teile des unteren Auges noch Flecken von der Breite eines halben Sektors von der Augenmitte bis zum Unterrand reichen (Tabelle 3, 3. Zeile von unten). Es ist im hinteren Teil der Abb. 8 also mit mehr als 3 Sektoren zu rechnen. Die wahre Anzahl der Sektoren kann man berechnen, indem man die Summe der Gesamthäufigkeiten, mit der die einzelnen Sektoren von einem Fleck ausgefüllt sind, dividiert durch die mittlere Häufigkeit einer Besetzung der Sektoren I—IV. Danach sind es 9—10 Sektoren, die aus ebenso viel Zellen hervorgegangen sein müssen (Abb. 10d).

Über die *Orientierung der Zellteilungen* der präsumptiven Augenzellen bis zu diesem Stadium geben die Zwillingsflecken Auskunft, denn diese lassen die Richtung der Teilung erkennen, aus der die Stammzellen der beiden aneinandergrenzenden Partner hervorgegangen sind. Diese Richtung muß im allgemeinen von vorn-oben nach hinten-unten verlaufen (Abb. 7g—l). Ein Abweichen von dieser Richtung kann zu Flecken führen, die teils in der oberen und teils in der unteren Augenhälfte liegen. Von 82 Flecken der unteren Augenhälfte, welche die Größe zweier oder mehrerer Sektoren haben, greifen 57 nicht über die Grenze hinweg (Abb. 7a, g—m), und 25 liegen zum Teil in der oberen und zum Teil in der unteren Augenhälfte (Abb. 7c, d, n—p). Bei 16 von diesen 25 Flecken liegt die Region, in der die Grenze überschritten wird, im vorderen Teil des Auges (Abb. 7n) und nur bei 9 im hinteren Teil (Abb. 7c, d, o). Aus diesen Zahlenverhältnissen geht hervor, daß von den beiden Zellen des Zweizellstadiums und

ihren Nachkommenschaften jeweils die eine bevorzugt zur Bildung der oberen, die andere bevorzugt zur Bildung der unteren Augenhälfte beiträgt und seltener

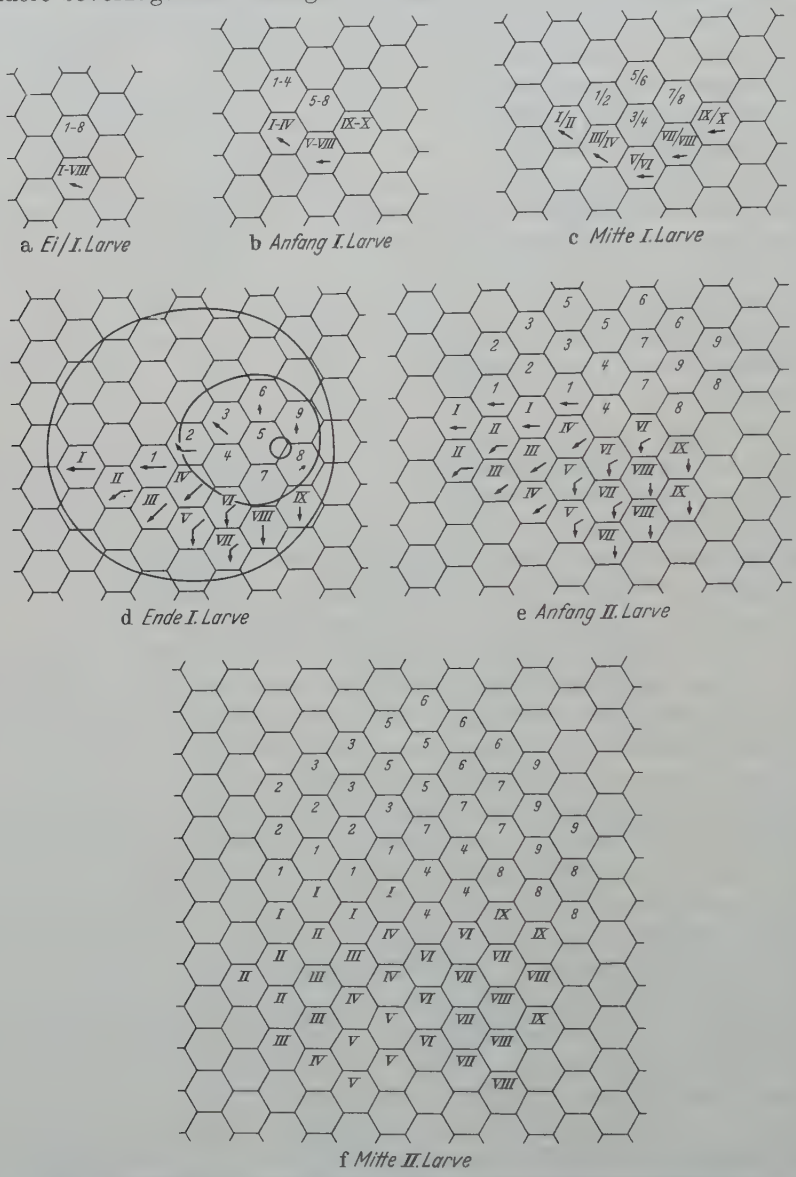

Abb. 10. Die aus Fleckform und relativer Lage der beiden Zwillingsfleckpartner erschlossene Teilungsabfolge der präsumptiven Augenzellen für den Zeitraum von 3 Teilungsschritten vor und 2 Teilungsschritten nach dem Zeitpunkt der Determination der Augenanlage. I—X: Zellen des unteren, 1—9: Zellen des oberen Augenbereiches. Die Pfeile geben die bevorzugten Teilungsrichtungen der nächsten Teilung der Zellen wieder. Geknickte Pfeile geben das Vorkommen zweier bevorzugter Teilungsrichtungen an. Erklärung der Kreise in Fig. d s. Text S. 363

Teile des oberen und unteren Auges gleichzeitig von einer von ihnen gebildet werden. Wenn durch Abweichungen in der Spindelstellung von 2 Geschwisterzellen eine in den präsumptiven oberen und die andere in den unteren Augen-

bereich gelangt, dann tritt das bevorzugt im vorderen Augenteil auf. Hiernach und auch nach der im ganzen speichenartigen Anordnung der Sektoren ist zu vermuten, daß die Richtung der im Anschluß an das Zweizellstadium folgenden Teilungen besonders im vorderen Augenbereich von der Horizontalen im Sinne einer Richtung von vorn-oben nach hinten-unten abweicht (Abb. 10a—c, Pfeile der Zellen mit römischen Ziffern). Die Flecken von der Größe nur eines der in Abb. 8b gegebenen Sektoren bleiben immer in der einen oder anderen Augenhälfte.

Wie lange vor dem Zweizellstadium die Bevorzugung dieser Teilungsrichtung schon bestand, ist nicht zu entscheiden. Es ist möglich, daß vor diesem Stadium die Spindeln nicht mit gleicher Regelmäßigkeit orientiert waren. Die großen, sich auf beide Augenhälften erstreckenden Flecken geben ein Bild von den Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, die mehr als die Hälfte des präsumptiven Augenbereiches in sich vereinigt (Abb. 7c und d).

Die langgestreckte Form der einzelnen Sektoren zeigt, daß die weiteren Teilungen bevorzugt in der Längsrichtung der Sektoren, also senkrecht zu den bisherigen Teilungen verlaufen. Tatsächlich erfolgt *die nächste Teilung* der meisten Zellen *mit radial gestellter Spindel* (Abb. 10d, e), denn in allen Sektoren hat der nächstkleinere Flecktyp noch die Breite, nicht aber die volle Länge des Sektors. Besonders deutlich zeigen das wieder die Zwillingsflecken (Abb. 7r—t). Der 1. Sektor macht von dieser Regel eine Ausnahme, denn hier tritt mit größerer Häufigkeit eine weitere Teilung in der bisherigen Orientierung auf. Die Folge davon ist, daß hier nur selten Flecken von Sektorenbreite aber geringerer Länge auftreten (Abb. 7r), meist aber solche von Sektorenlänge und geringerer Breite ähnlich dem in Abb. 7v, der jedoch wohl aber der oberen Augenhälfte angehört. Noch Flecken von der Breite eines Ommatidiums können in dieser Region vom Vorderrand zum Hinterrand des Auges reichen.

In allen übrigen Sektoren haben auch die nach einer weiteren Zellteilung entstehenden Flecken noch die Breite des ganzen Sektors. Demnach läuft *auch die nächste Teilung mit radial gestellter Spindel* ab (Abb. 10e, f). Abb. 7u zeigt den Erfolg dieser Teilung von zwei hintereinander liegenden Zellen eines Sektors.

Es besteht nun die Möglichkeit, *aus den bisher geschilderten morphologischen Befunden auf ein entwicklungsphysiologisches Geschehen in der Anlage zu schließen und seinen Zeitpunkt festzulegen.*

Flecken von der Größe von zwei oder mehreren Sektoren können im unteren Auge verschiedene und zwar sich überschneidende Plätze einnehmen. In der Zeit, in der solche Flecken ausgelöst werden, ist also noch nicht darüber entschieden, welche Plätze im Auge die aus den einzelnen Zellen hervorgehenden Ommatidienverbände einzunehmen haben. Für die Flecken von Sektorengröße gilt dies aber nicht mehr: Die Plätze, die sie einnehmen können, überschneiden sich grundsätzlich nicht. Dies besagt aber, daß *die einzelnen Zellen der präsumptiven unteren Augenhälfte, so lange ihre Anzahl vier oder weniger beträgt, noch nicht zur Bildung eines bestimmten Augenteiles, also offenbar auch überhaupt noch nicht zur Augenbildung determiniert* sind. Eine Determination, durch die der Ort des Auges bestimmt wird, findet statt auf einem Zustand, in dem Flecken der Größe eines Sektors ausgelöst werden und die Teilungsorientierung wechselt, oder auf einem späteren.

Auf den betrachteten Zustand folgen 2 Teilungsschritte, welche die Vorfahrenzellen von Halb- und Viertel-Sektoren liefern. Fände die Determination nach dem zweiten dieser Teilungsschritte statt, so beträfe sie 4 Längsreihen von Zellen. Innerhalb eines Sektors könnten dann entweder jeweils die beiden oberen oder die beiden unteren oder aber die beiden mittleren Viertel des Sektors von Flecken der Größe eines halben Sektors bedeckt sein. Der letztgenannte Typ kommt aber wahrscheinlich nicht, jedenfalls nicht als charakteristischer Flecktyp vor. Dies besagt, daß *nach dem 2. Teilungsschritt in senkrechter Richtung die Determination eines bestimmten Komplexes von Anlagenzellen zur Augenbildung bereits besteht.* Ob sie vor oder nach dem 1. Teilungsschritt stattfindet, ist nicht sicher zu entscheiden.

Im oberen Auge ist die Lage der Flecken anders und nicht so regelmäßig wie im unteren. Man findet Flecken an hintereinanderliegenden Orten, so den in Abb. 7e im vorderen Teil der oberen Augenhälfte mit daneben stehenden *singed*-Orbitalborsten und andererseits Flecken am oberen Hinterrand mit benachbarten *singed*-Vertikal- und Hinterrandborsten, außerdem aber auch solche, die das obere halbe Auge noch einmal horizontal mit gerader oder auch sehr unregelmäßiger Grenze aufteilen. Innerhalb des vorderen Teils jedoch treten mit einiger Regelmäßigkeit Fleckgrenzen auf, wie sie in Abb. 8b oberhalb der Mittellinie eingezeichnet sind. Sie liegen etwa symmetrisch zu den Fleckgrenzen im unteren Augenteil, also auch radial. In den übrigen Teilen ergeben Flecken, die in ihrer Größe einem oder mehreren Sektoren der unteren Augenhälfte entsprechen, ein völlig ungeordnetes Liniengewirr, wenn sie so übereinander gezeichnet werden, wie es in Abb. 8a für das untere Auge geschehen ist. Nur in der Nähe des Randes zeigen auch sie eine gewisse Regelmäßigkeit. Sie verlaufen hier fast radial, d. h. die Fleckgrenzen stoßen meistens senkrecht auf den Augenrand (Abb. 7c—e, p, v). Flecken der Form wie in Abb. 7r—t werden daher gelegentlich auch im oberen Auge gefunden. Das deutet darauf hin, daß *im präsumptiven Bereich des oberen Auges eine geringe Bevorzugung der gleichen Teilungsrichtungen wie im unteren Auge* vorliegt, die aber nicht im gleichen Maße eingehalten wird. Bei der Herstellung der Abb. 10, in welche auch die Zellen des oberen Augenbereiches eingetragen sind (arabische Ziffern), wurde dieser Umstand berücksichtigt.

Die mittlere Größe der Flecken ist bei getrennter Berechnung für die im 1. und die im 2. Larvenstadium ausgelösten Flecken in der oberen und der unteren Augenhälfte gleich. Die Teilungsintensität ist demnach in den beiden Augenhälften im Mittel gleich. Innerhalb der beiden Hälften ist bis zum Zeitpunkt der Bestimmung der Zellen zur Augenbildung ein *Teilungsintensitätsunterschied* zwischen dem vorderen und dem hinteren Augenteil nicht festzustellen. Er müßte sich darin ausdrücken, daß regelmäßig Zwillingsflecken von Mehrsektorengröße auftreten, deren Partner verschiedene Anzahlen von Sektoren umfassen. Einzelfälle dieser Art liegen vor (Abb. 7h). Es hat aber nicht den Anschein, daß dabei eine feste Lagebeziehung zwischen größeren und kleineren Partnern besteht; wohl aber findet sich eine Regelmäßigkeit in der Lage größenverschiedener Partner eines Zwillingsfleckes von der Größe eines Sektors. Tabelle 4 zeigt, daß in beiden Augenhälften die näher der hinteren Augenmitte liegenden Partner im Mittel 1—2 Teilungsschritte weniger durchgemacht haben

als die distal gelegenen. Dies besagt, daß *nach dem Zeitpunkt der Bestimmung der Augenanlage auch ein bestimmtes Teilungsintensitätsmuster* in ihrem Bereich erkennbar ist (Abb. 8b Halbkreis; Abb. 7s, t). Dieses Muster kann gleichzeitig mit der Umstellung der Teilungsorientierung geschaffen werden. Es kann aber auch sein, daß es erst später entsteht und die ersten Teilungsschritte nach der Umstellung noch synchron verlaufen.

Hinsichtlich der *Bestimmung der Augenanlage* hat sich somit ergeben, daß sie *möglicherweise mit einer Umstellung der Teilungsorientierung und außerdem mit der Schaffung eines Teilungsintensitätsmusters zeitlich zusammenfällt.* Es liegt nahe anzunehmen, daß es sich bei allen 3 Zustandsänderungen um ein einheitliches Determinationsgeschehen handelt.

Tabelle 4. *Zwillingsflecken von der Größe eines Sektors aus der oberen und der unteren Augenhälfte*

In der ersten Spalte sind die Flecken aufgeführt, deren weiße (*w/w*) Komponente in der Nähe der hinteren Augenmitte (proximal) und deren dunkle Komponente distal liegt (Abb. 7t); in der zweiten Spalte die Flecken mit umgekehrter Anordnung (Abb. 7s); in der dritten Spalte die Summe aus den beiden vorderen

Farbe der Fleckkomponenten	weiß	dunkel	dunkel	weiß	Σ	
Lage der Fleckkomponenten	proximal	distal	proximal	distal	proximal	distal
	$n = 13$		$n = 21$		$n = 34$	
Gesamtanzahl der Ommatidien	156	464	320	709	476	1173
Mittlere Fleckgröße in Ommatidien	12,0	35,8	15,2	33,8	14,0	34,5

Der *Zeitpunkt dieser Vorgänge* läßt sich aus der Größe der Sektorenflecken bestimmen. Sie entspricht der Fleckgrößenklasse von 32—64 Ommatidien, die nach Abb. 5 das Maximum der Variationskurve für Zwillingsflecken nach Behandlung am Ende des 1. Larvenstadiums bildet. Zu dieser Zeit besteht das präsumptive Auge aus 18—20 Zellen und die beiden Peripodialsäckchen mit der Anlage wachsen auf das Gehirn zu. Die Reihe der drei vorhergehenden bestimmt gerichteten Teilungsschritte (Abb. 10a—d) läuft demnach im 1. Larvenstadium mit dem Beginn möglicherweise schon am Ende des Embryonalstadiums ab, die beiden folgenden (Abb. 10d—f) finden im Laufe des 2. Larvenstadiums statt.

c) Die Augen des neuen Mutationsstammes

Im Stamm *Cy/Pm ds*^{33k}; *H/C Sb* des Göttinger Institutes trat eine neue Mutation auf, welche verkleinerte und formveränderte Augen bedingt.

Einige *genetische Daten* wurden durch Kreuzung mit einem Normalstamm ermittelt. Der neue Faktor erwies sich in der F_1- und in der Rückkreuzungsgeneration als an das 2. (*Cy*-) Chromosom gebunden. Er ist dominant; sein Verhalten in homozygotem Zustand konnte nicht festgestellt werden, denn *Cy* ist homozygot letal. Die Augenformveränderung ist der des Faktors *Lobe* (*L*) sehr ähnlich (vgl. Abb. 11b mit Abb. 78 bei Bridges-Brehme 1944); der Faktor hat demnach mit *L* die Wirkung auf die Augenform und die Dominanz gemeinsam und liegt mit ihm im gleichen Chromosom. Es handelt sich daher möglicherweise um ein *Lobe*-Allel. Obgleich *Cy* im linken und der *Lobe*-Locus im rechten Arm des 2. Chromosoms liegt, wäre in diesem Falle die Koppelung eines *Lobe*-Allels mit *Cy* zu erklären, denn nach

Speicheldrüsenchromosomenuntersuchungen hat das *Cy*-Chromosom dieses Stammes in beiden Armen je eine Inversion, wodurch der Faktorenaustausch im Chromosom fast völlig unterdrückt wird.

Die Ausprägung des Merkmals ist temperaturabhängig. Bei 25° C ist die Augenreduktion stark und vielfach mit einer Verkleinerung des Kopfes verbunden. Bei Aufzucht in 18° C ist der Kopf nicht verkleinert und die Augenreduktion weniger stark, aber sehr variabel. Im folgenden soll zunächst die Variabilität der Augengröße bei in 18° C aufgezogenen Tieren behandelt werden und anschließend die Erscheinungen bei 25° C Zuchttemperatur.

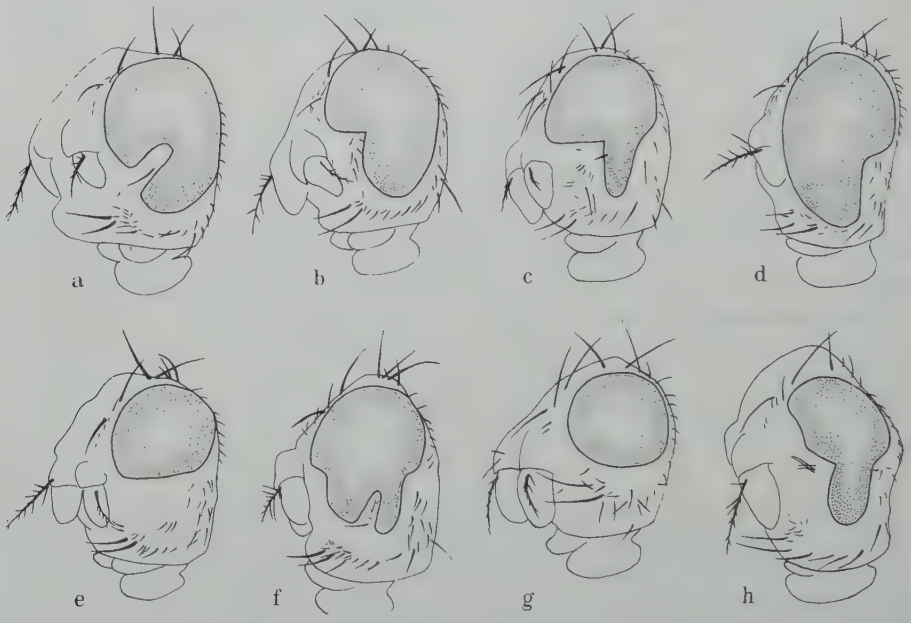

Abb. 11a—h. Die verschiedenen Augenformen der neuen Mutante. a—f bei Entwicklung in 18° C; g in 25° C; h in 18° C und kombiniert mit B/B^+

Bei der *Entwicklungstemperatur von 18° C* haben 35% der Fliegen ein normales Auge. Bei den restlichen 65% ist nur die obere Augenhälfte intakt; der Bereich der unteren Augenhälfte ist unvollständig mit Ommatidien ausgefüllt (Abb. 11a—f). Die Teile des Auges, denen die Ommatidien fehlen, haben normales Epithel ausgebildet. Dieses Epithel ist teilweise borstenlos, vielfach aber unregelmäßig mit Borsten bestanden. Die Form dieser ommatidienlosen Bezirke stimmt mit der Form der durch Markierung einzelner Zellen erzeugten Mosaikflecken überein. Der ommatidienfreie Bezirk ist so groß wie ein Sektor der Abb. 8b (Abb. 11a) oder größer (Abb. 11b—f). Im äußersten Falle ist der ganze Teil des Kopfes, auf dem normalerweise die untere Hälfte des Auges liegt, ohne Ommatidien (Abb. 11e). Daneben treten auch Augen auf, bei denen zwei oder drei getrennt voneinander liegende Abschnitte ohne Ommatidien sind (Abb. 11f).

Zur *Auswertung* wurden die Augen der Tiere mit der Abb. 8b verglichen. Ihre Defekte wurden nach Größe und Lage als Ausfälle der entsprechenden Sektoren angesprochen und in Tabelle 5 zusammengestellt.

Tabelle 5. *Die Größe und Häufigkeitsverteilung der ommatidienlosen Bezirke der unteren Augenhälfte bei den defekten Augen der neuen Mutante. Entwicklungstemperatur: 18° C.*

In Klammern die Augen, die außer dem angegebenen Defekt einen oder zwei weitere Defekte in nicht unmittelbar angrenzenden Sektoren zeigen

Größe der defekten Sektoren	Sektor I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Summe der Bereiche eines Größentyps	Σ
1	96 (38)	18 (13)	8 (12)	11 (2)	22 (13)	14 (4)	10 (9)	16 (17)	195 (108)	303
2	69 (5)		14 (11)		7 (2)		10 (19)		142 (49)	191
		25 (7)		15 (4)		2 (1)				
3		46 (10)			7 (—)				74 (22)	96
			7 (3)			3 (—)				
				6 (4)			5 (5)			
4		24 (9)				5 (—)			39 (14)	53
			6 (2)							
				3 (—)						
					1 (3)					
5			14 (5)						20 (7)	27
				2 (—)						
					1 (—)					
						3 (2)				
6				18 (—)					22 (1)	23
					2 (—)					
						2 (1)				
7					16 (—)				19 (—)	19
					3 (—)					
8					64 (—)				64 (—)	64
Gesamthäufigkeit, mit der jeder Sektor ausfällt	414	368	322	265	236	176	167	152		

Aus der Tabelle sind die folgenden Einzelheiten abzulesen:

a) Die häufigsten Ausfälle betreffen den Sektor I allein (96). Es folgt der Ausfall der beiden ersten Sektoren (69) und unmittelbar darauf der der ganzen unteren Augenhälfte (64).

b) Die Wahrscheinlichkeit für einen der Sektoren II—VIII, allein auszufallen, ist etwa gleich und viel niedriger als die für den Ausfall des Sektors I (erste Zeile).

c) Die Wahrscheinlichkeit für einen Sektor, allein oder mit anderen zusammen auszufallen, nimmt von vorn nach hinten ab (letzte Zeile).

d) Die Wahrscheinlichkeit für alle größeren Ausfälle einer Größenklasse ist annähernd gleich, mit Ausnahme derer, an denen der Sektor I beteiligt ist.

e) Die Häufigkeit der Defekte nimmt mit zunehmender Ausdehnung zunächst ab (1—5 Sektoren), bleibt dann gleich und steigt bei 8 Sektoren wieder stark an (vorletzte und letzte Spalte).

In der Tabelle ist nicht verzeichnet, daß gelegentlich am mittleren Vorderrand des Auges eine Kerbe auftritt, die auf den Bereich der oberen Augenhälfte übergreift.

Aus der Formengleichheit der Mosaikflecken nach Röntgenbehandlung und der ommatidienlosen Teile der mutanten Augen, der Größe dieser Teile und ihrer Häufigkeitsverteilung im Auge soll versucht werden, über die Art und den Zeitpunkt der Wirkung des mutanten Allels Auskunft zu bekommen. Da die Augenkerben die Form und Größe eines oder mehrerer Sektoren der Abb. 8b haben, handelt es sich offenbar auch hier um die Nachkommenschaften einzelner Zellen. Danach kommen für die Wirkungszeit des mutanten Allels zunächst alle Stadien in Betracht, auf denen der präsumptive untere Augenbereich aus 10 oder weniger Zellen besteht.

Eine Möglichkeit für die Art der Genwirkung bestünde in der Begünstigung *somatischer Mutationen.* An diesen Genwirkungsmodus hat man bei der Scheckung der Augen durch V-Typ-Positionseffekte gedacht. Man betrachtete verschieden große Flecken im Auge als Ausdruck verschiedenen zeitlichen Auftretens der somatischen Mutation (DEMEREC und SLIZYNSKA 1937). Inzwischen stellte sich jedoch heraus (SUTTON-GERSH 1952), daß die Scheckung nicht durch genetische Änderung einzelner Zellen entsteht, sondern daß sie durch ein unterschiedliches Ansprechen auf ein Wirkungsmuster mit seinem Zentrum im dorsokaudalen Bereich des Auges erklärt werden muß. Die Autorin glaubt hieraus bereits schließen zu können, daß auch bei den Augenformmutanten, bei denen die ventrale Hälfte stärker betroffen wird als die dorsale, ein anderer Faktor als somatische Mutation verantwortlich sein muß.

In der in der unteren Zeile der Tabelle 5 gegebenen Gesamthäufigkeit, mit der die einzelnen Sektoren von der Mutationswirkung betroffen sind, zeigt sich ein deutlicher Wirkungsgradient. Da aber kein Anlaß besteht, mit einem Muster für unterschiedliche Mutabilität in der Anlage zu rechnen, kann ein somatisches Mutationsereignis als Entstehungsursache für die ommatidienlosen Bezirke ausgeschlossen werden.

Eine zweite Deutungsmöglichkeit bestünde darin, die verschieden großen Defekte mit einer anderen, aber doch auch *zeitlich wechselnden Wirkung des mutanten Allels* zu erklären. Unter Berücksichtigung der Häufigkeitsverteilung der verschieden großen Defekte (Tabelle 5, letzte und vorletzte Spalte) müßte die Mutation häufig auf dem Stadium wirken, auf dem der präsumptive untere Augenbereich aus 9—10 Zellen besteht, und in geringerem und verschiedenem Maße auch auf früheren Stadien. Das unterschiedliche Ansprechen verschiedener Teile der Anlage und das unabhängige Reagieren der Zellen wäre mit dieser Annahme noch nicht erklärt.

Alle aus Tabelle 5 hervorgehenden Erscheinungen sind indessen am besten zu verstehen, wenn man annimmt, daß *das mutante Allel die Abschwächung eines Prozesses bewirkt, der bestimmten Zellen die Potenz zur Ommatidienbildung erteilt.* Das Maximum seiner Wirksamkeit hat dieser Prozeß offenbar im präsumptiven hinteren, oberen Augenbereich. Für die Lage des Maximums im hinteren Augenbereich spricht die große Häufigkeit, mit der der Sektor I allein oder zusammen mit anderen ausfällt, und die damit im Zusammenhang stehende, von vorn nach hinten abnehmende Wahrscheinlichkeit für einen Sektor, allein oder zusammen mit anderen auszufallen. Die Lage des Wirkungsmaximums im oberen Augenbereich ist aus der Tatsache zu schließen, daß bei der Mutante die obere Augenhälfte bis auf gelegentliche Defekte an ihrem Vorderrande immer ausgebildet wird. In dieselbe Richtung deutet die etwa gleiche Wahrscheinlichkeit, mit der die Sektoren II—VII allein ausfallen, ferner die hohe Ausfallshäufigkeit der

ganzen unteren Augenhälfte im Vergleich mit der einzelner oder mehrerer Sektoren des mittleren unteren Augenbereiches.

Bei dieser Annahme wird die verschiedene Größe der Defekte nicht mit einer zeitlich wechselnden *Wirkung des mutanten Allels* erklärt, sondern mit einer *quantitativ verschiedenen Wirkung zu einem bestimmten Zeitpunkt*. Da die kleinsten Defekte von der Größe eines ganzen Sektors sind, liegt dieser Zeitpunkt in dem Stadium, in dem der präsumptive Augenbereich aus etwa 18—20 Zellen besteht, also am Ende des 1. Larvenstadiums. Man darf annehmen, daß der zu dieser Zeit stattfindende *Prozeß identisch ist mit der oben erschlossenen Determination zur Augenbildung*, verknüpft also mit der Schaffung eines Musters der Teilungstätigkeit im präsumptiven Augenbereich hinsichtlich der Orientierung der Teilungen und der Teilungsintensität. Die *Gesamtheit dieser Prozesse* kann man als die *Schaffung eines Ommatidienfeldes* bezeichnen. Das normale Allel ist demnach an der Bildung des Ommatidienfeldes beteiligt, speziell an der Herstellung der richtigen Größe des Feldes.

Diese Ergebnisse stimmen mit dem Befund von M. Vogt (1946) überein, daß die Kopfanlage zu Beginn des 2. Larvenstadiums kein harmonisch äquipotentielles System ist, sondern unterteilt in eine Anzahl von Selbstgliederungsfeldern (s. S. 347).

Unter Berücksichtigung dieser Vorstellung sind die Zellen in Abb. 10 angeordnet. Ihre gegenseitige Lage ist also sowohl aus dem der Felddetermination vorangehenden und folgenden Wachstumsmodus der Anlage wie auch aus der Wirkungsweise des mutanten Allels erschlossen. Das *Zentrum des Feldes liegt wahrscheinlich im präsumptiven hinteren, oberen Augenbereich*, dem Bereich der maximalen Wirksamkeit des Determinationsprozesses. Die in Abb. 10d eingezeichneten Kreise geben das mutmaßliche Zentrum des Feldes, seine kleinste Ausdehnung bei stärkster Mutationswirkung und die kleinste erforderliche Ausdehnung für die Ausbildung eines normalen Auges an. Der Rand eines Ommatidienfeldes geht danach normalerweise weit genug über den präsumptiven Augenbereich hinaus, um selbst bei geringen Größenschwankungen noch immer außerhalb dieses Bereiches zu verlaufen. Bei einer durch das mutante Allel hervorgerufenen Verkleinerung des Feldes würde sein unterer Rand innerhalb des präsumptiven unteren Augenbereiches liegen. Zunächst würden dadurch die die vorderen Sektoren bildenden Zellen betroffen. Liegen die mittleren und hinteren Zellen des unteren Augenbereiches in annähernd gleichem Abstand vom Feldzentrum, dann werden sie entweder gar nicht von der Mutationswirkung betroffen, und es fallen nur der erste Sektor oder die beiden ersten Sektoren allein aus; oder sie werden alle gemeinsam betroffen, dann fällt die ganze untere Augenhälfte aus (vgl. Tabelle 5 und Punkt a auf S. 361). Auch die annähernd gleiche Wahrscheinlichkeit für die Sektoren II—VII, allein auszufallen (Punkt b auf S. 361), paßt zu dieser Vorstellung. Kleine individuelle Unterschiede der Reaktionsweise verschiedener Zellen auf gleiche Feldbedingungen machten den Einfluß der Mutationswirkung auf einzelne Zellen verständlich, aus denen getrennt voneinander liegende Sektoren hervorgehen (Abb. 11f). So kann durch das alternative Entwicklungsschicksal der Zellen und durch ihren eigentümlichen Wachstumsmodus nach der Determination ein wahrscheinlich ebenmäßiger Feldrand als ein stark gezackter Rand im definitiven Auge abgebildet werden.

Ebensowohl könnte das Ommatidienfeld dizentrisch sein. Das mutante Allel würde dann bewirken, daß das Ommatidienfeld von einem dizentrischen zu einem monozentrischen abgewandelt wird, indem der untere Teil des Feldes zunächst verkleinert wird und schließlich ganz verschwindet.

Die Selbstgliederungsfelder der Genitalimaginalscheiben in den Untersuchungen von HADORN und GLOOR (1946) und HADORN, BERTANI und GALLERA (1949) haben ebenfalls zentrischen Charakter. Das Zentrum eines Feldes konnte erschlossen werden aus der Häufigkeit, mit der ein Anlagenteil zu bestimmten Bildungsleistungen imstande war. — Auf einen möglicherweise dizentrischen Zustand in der Augenanlage zum Differenzierungszeitpunkt lassen die Formen der *Bar*-Augen schließen. So zeigt die Bohnenform im heterozygoten *Bar*-Auge an, daß im oberen und im unteren Augenbereich die Augengrenze weiter vorgedrungen ist als in der Mitte. Ferner ist bei MORGAN, BRIDGES und STURTEVANT (1925) ein *Ultrabar*-Auge abgebildet, bei dem das extrem verkleinerte Auge in einen oberen und einen unteren Teil aufgespalten ist.

Die Augen der neuen Mutante sind denen der *Lobe*-Tiere sehr ähnlich. Sie haben wie diese mit den *Bar*-Augen gemeinsam, daß sie verkleinert sind und daß ihre Ommatidienanzahl nicht allein von der Größe der Kopfanlage abhängt (s. S. 349). Während aber durch die Wirkung des Faktors *Bar* nur ein Teil eines vorhandenen Ommatidienfeldes Ommatidien bildet, wird bei der untersuchten Mutante das Ommatidienfeld selbst in unterschiedlicher Größe angelegt, ohne daß die Kopfanlagengröße verändert werden muß. Es ist daher wahrscheinlich, daß von den *Lobe*-Allelen STEINBERGS der gleiche Prozeß verändert wird wie von der hier untersuchten Mutante.

Die *Unabhängigkeit der Wirkung* der beiden Faktoren, der *der hier untersuchten Mutante und der des Faktors Bar*, kommt in Abb. 11h zum Ausdruck. Die Abbildung zeigt ein für beide Faktoren heterozygotes Auge. Die Proportionen der Kopfanlage sind unverändert geblieben. Das Ommatidienfeld erstreckt sich aber durch die Wirkung der neuen Mutante offenbar nur auf den präsumptiven oberen Augenbereich und auf die Zellen VI und VII des unteren Augenbereiches. Die von diesen beiden Zellen gebildeten Sektoren liegen weit genug hinten im Auge, um trotz des Faktors *Bar* sämtlich Ommatidien bilden zu können. Die durch die Konstitution B/B^+ bewirkte Augenverkleinerung kann folglich nur am Vorderrand der oberen Augenhälfte wirksam werden (vgl. Abb. 11c und h).

Bei einer *Entwicklungstemperatur von 25° C* findet man außer den bisher beschriebenen Formen eine größere Anzahl Tiere, bei denen der Kopf eindeutig verkleinert ist. Zwischen den Tieren mit normalgroßem und denen mit stark verkleinertem Kopf gibt es alle Übergänge. Es wurde nicht versucht, die Phänotypen quantitativ zu erfassen. Das Wesen der Kopfverkleinerung wird aus der Form und dem Verhalten der extrem verkleinerten Köpfe deutlich. Abb. 11g zeigt, daß die Verkleinerung des Kopfes auf Kosten seiner unteren Hälfte geht. Das wird am besten aus der Lage des das Auge umstehenden Borstenkranzes, bezogen auf die Lage der Antenne, sichtbar. Der Borstenkranz ist, wie oben (S. 348) bereits gezeigt wurde, offenbar ein Abbild des Ommatidienfeldes auf dem Imaginalkopf. Er behält bei den in 18° C gehaltenen Tieren annähernd seine normale Lage bei (Abb. 11a—f, h); sein unterer Rand liegt tiefer als das Antennenende. Bei verkleinerten Köpfen liegt er in Höhe des letzten Antennengliedes (Abb. 11g). Meistens fehlt bei diesen Augen der untere Teil des Borstenkranzes völlig. Das Auge ist der veränderten Kopfform entsprechend ebenfalls verkleinert.

Es liegt im Bereich der normalen oberen Augenhälfte. Seine Form ist im Gegensatz zum länglichen Normalauge rund und ähnelt dem Augentyp, dem nach Aufzucht in 18° C die ganze untere Augenhälfte fehlt (vgl. Abb. 11e und g).

Auf verschiedenen Entwicklungsstadien wurden Zuchten von 25 nach 18° C sowie von 18 nach 25° C umgesetzt. Der Einfluß der Zweittemperatur nimmt erst nach dem Umsetzen am Ende des 2. Larvenstadiums ab, also erst nach den Zeitpunkten, in denen über die Größe der Kopfanlage, beziehungsweise über die Größe des Ommatidienfeldes entschieden worden ist. Danach dehnt sich offenbar *bei der Entwicklungstemperatur von 25° C die Wirkung des mutanten Allels auf das Größenwachstum der Kopfanlage* aus. Im 2. und am Anfang des 3. Larvenstadiums ist das Wachstum der Kopfanlage, mindestens im präsumptiven unteren Augenbereich, bevorzugt radial nach unten und vorn gerichtet (s. oben S. 357). Hiermit ist bei der Annahme einer wachstumshemmenden Wirkung des mutanten Allels die Kopf- und Augenform der Tiere sowie die Wirkungszeit des Faktors zu verstehen.

d) Die übergreifenden Flecken

Die Frage, in welchem Maße mit der aus den beiden vorigen Kapiteln erschlossenen Felddetermination das Entwicklungsschicksal der einzelnen Zellen festgelegt ist, ist eingehend von M. Vogt behandelt worden. Aus ihren Defektversuchen (1946; s. S. 347) ging hervor, daß die Felder der Kopfanlage bis in das 3. Larvenstadium hinein zu Regulationsleistungen befähigt sind. Die Analyse der *Bar*-Wirkung ergab, daß es offenbar selbst nach Anlage eines normalen Ommatidienfeldes noch eines weiteren Prozesses im 3. Larvenstadium bedarf, der die Zellen zur Ommatidiendifferenzierung bestimmt. Eine exaktere Aussage über den *Determinationszustand einzelner Zellen nach der Ommatidienfelddetermination* ist möglich, wenn die Zellen am Rande des präsumptiven Augenbereiches noch sowohl Epithelzellen als auch Ommatidienzellen unter ihren Nachkommen haben, und wenn es gelingt, ihre Nachkommenschaft im Auge und außerhalb des Auges wieder zu erkennen.

Die Konstitution der bestrahlten weiblichen Larven war $w^+ sn^+/w\ sn$. Bei einem Austausch proximal vom *sn*-Locus ist eine der Nachkommenzellen $w\ sn/w\ sn$. Liegt die veränderte Zelle am Rande des präsumptiven Augenbereiches, dann ist der ommatidienbildende Teil ihrer Nachkommen weiß, und der kopfepithelbildende trägt *sn*-Borsten (Abb. 7a, e, f). Diese Mosaikflecken sollen als *übergreifende Flecken* bezeichnet werden. Sie können nur überall dort sichtbar werden, wo am Augenrande Borsten stehen. Der ganze Vorderrand ist fast genau in dem Bereich, der der Antenne benachbart liegt, borstenlos; er macht etwa $^1/_5$ der Augenperipherie aus. Im übrigen Teil der Augenperipherie stehen nahe dem Augenrand große und kleine Borsten. Wenn nun am Rande des Auges ein weißer Fleck liegt und daneben eine oder mehrere *sn*-Borsten stehen, dann können sie entweder auf ein gemeinsames oder auf zwei unabhängige Ereignisse zurückgehen. Man kann für den Fall, daß ein randständiger weißer Fleck und an der Peripherie des gleichen Auges stehende *sn*-Borsten jedesmal auf zwei unabhängige Ereignisse zurückgehen, die Wahrscheinlichkeit berechnen, mit der der weiße Fleck und die *sn*-Borsten im gleichen Fünftel der willkürlich unterteilten Augenperipherie und mit der sie in verschiedenen Fünfteln liegen.

Es wurden 32—35stündige Larven bestrahlt und ihre Imagines untersucht. Unter 54 Weibchen, welche sowohl einen randständigen weißen Augenfleck als auch eine oder mehrere *sn*-Borsten am Rande des Auges zeigten, waren 9, deren *sn*-Borsten auf einem nicht dem Augenfleck benachbarten Teil der Augenperipherie standen und 45 mit unmittelbar neben dem weißen Augenfleck stehenden

sn-Borsten. Handelte es sich bei der Entstehung der 54 Fälle jeweils um zwei unabhängige Ereignisse, dann wäre nur bei einem Viertel, also in 13,5 Fällen, mit einem Zusammentreffen beider Flecken in dem gleichen Fünftel zu rechnen. Da anstatt dessen 45 Fälle mit jeweils zwei nebeneinanderliegenden Flecken gefunden wurden, treten bei Behandlung in diesem Alter sicher übergreifende Flecken auf. Die Zellen, aus denen sie hervorgegangen sind, waren demnach noch nicht fest determiniert.

Bei einer *Angabe der* genauen *Zeit*, zu der auf Grund dieses Versuches noch labil determinierte Zellen anzutreffen sind, ist zu berücksichtigen, daß etwa 75% der Flecken durch somatischen Austausch entstanden sind. In diesem Falle ist nur eine der beiden Tochterzellen der bestrahlten Zelle markiert. Der wirklich untersuchte Zeitabschnitt liegt also auf einem Stadium, auf dem die Anlage um soviele Stunden älter geworden ist, wie ein Teilungszyklus der Zellen dauert. Nach Abschnitt 1 darf man folglich mindestens 5 Std zum Alter der bestrahlten Larven hinzuzählen, so daß nach dem Versuchsergebnis die *Kopfanlage bei 37—40 Std alten Larven, also am Ende des 2. Larvenstadiums, noch labil determinierte Zellen* hat. Das bedeutet, daß die *definitive Abgrenzung des Auges bestimmt nach der Ommatidienfelddetermination, jedenfalls nicht vor dem Ende des 2. Larvenstadiums* erfolgt.

e) Die Röntgenwirkung auf die Augenanlagen von Larven des 3. Stadiums

Nach Bestrahlung von Eiern sowie Larven des 1. und 2. Stadiums bleibt das Muster der 6eckigen, in Reihen liegenden Facetten unverändert. Nach Behandlung der Larven des 3. Stadiums wird die Regelmäßigkeit der *Facettenanordnung in bestimmten Regionen des Auges gestört*, wobei Form und Größe der Facetten in wechselndem Maß verändert sind. Die Störungen treten bei allen Imagines und in beiden Augen auf. Friesen (1936) nannte diesen Störungstyp „rauhe Augen". *Die Lage der gestörten Region ist abhängig vom Bestrahlungsalter der Larven.*

Um die Regelmäßigkeit der *Änderung der Störungslage mit dem Bestrahlungsalter der Larven* deutlich machen zu können, wurden die Augen in 5 Klassen eingeteilt. Als „hinteres Drittel gestört" wurden alle Augen bezeichnet, bei denen noch eben ein schmaler Streifen veränderter Ommatidien am Hinterrande des Auges zu erkennen war, bis zu denen, deren hinteres Drittel die Störung zeigte. Da eine hinten im Auge gelegene Störung nur selten mehr als das halbe Auge betraf, wurden alle mehr als das hintere Drittel umfassende Störungen dieser Art als eine Klasse „hintere Hälfte gestört" gezählt. Die Augen, die in ihrer Mitte einen Längsstreifen veränderter Ommatidien, am Vorder- und Hinterrand aber normale Ommatidien trugen, sind in der Klasse „mittleres Drittel gestört" aufgeführt. Die Breite dieses gestörten Längsstreifens variiert. Das für das hintere Auge Gesagte gilt entsprechend für die beiden Klassen „vordere Hälfte gestört" und „vorderes Drittel gestört" im vorderen Teil des Auges.

Die prozentuale Häufigkeit der Störungsklassen innerhalb jeder Reizaltersklasse gibt Abb. 12 an. Es zeigt sich, daß mit dem Beginn des 3. Larvenstadiums die Auslösbarkeit von Störungen des hinteren Augendrittels beginnt, daß die Störungen nach späterer Behandlung schließlich einen größeren Teil des hinteren Auges umfassen, und daß sie nach Behandlung 70—80stündiger Larven vornehmlich in einem mittleren Längsstreifen des Auges liegen. Dieser Störungstyp wird noch vor der Puppariumbildung (nach Behandlung 80—90stündiger Larven) von demjenigen abgelöst, der bis zum vorderen Augenrand reicht. Nach Behand-

lung junger Vorpuppen (zwischen 90 und 100 Std Larvenalter) beschränken sich die Störungen größtenteils auf einen schmalen Streifen am Vorderrand des Auges.

Friesen (1936) erwähnt die unterschiedliche, vom Behandlungsalter abhängige Lage der Störung nicht. Seine zeitlichen Angaben stimmen mit den hier gemachten sehr gut überein. Bei ihm traten die Störungen bei Behandlung vom Beginn des 3. Larvenstadiums ab bis nach der Puppariumbildung ebenfalls mit einer Häufigkeit von 100% auf.

Die mit fortschreitendem Bestrahlungsalter wechselnde Lage der Störung erinnert an das Verhalten der vorderen Augengrenze bei Vertretern der *Bar*-

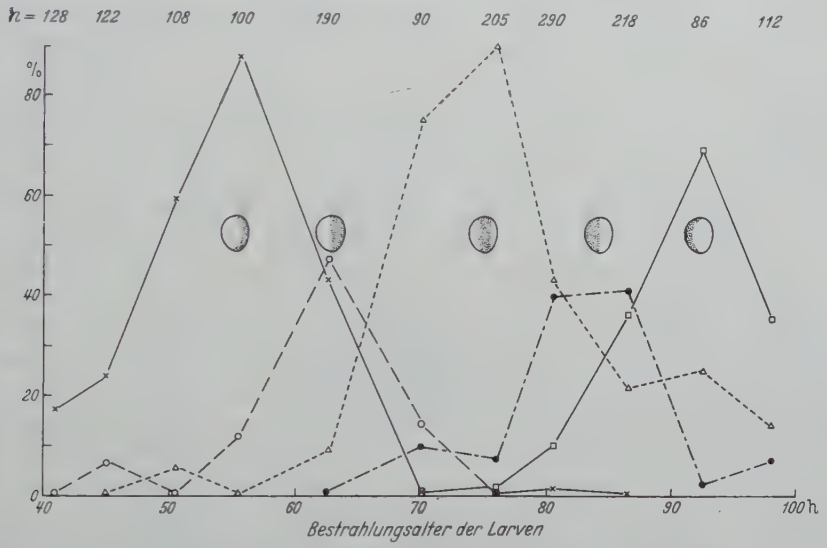

Abb. 12. Prozentuale Häufigkeit der 5 Lagetypen der Facettierungsstörungen in den Augen der Imagines (Ordinate) nach Röntgenbehandlung in den verschiedenen Altersklassen des 3. Larvenstadiums (Abszisse) (Chaoul-Körperhöhlenrohr, 60 kV, 6 mA, 1500 r)

Serie, von *Ultrabar* bis normal. Außerdem liegt die sensible Periode für *Bar* im 3. Larvenstadium, also innerhalb des gleichen Zeitabschnittes, in dem die Störungen ausgelöst werden können.

Auch bei anderen Insekten sind Vorgänge beschrieben worden, die sich mit dem Verhalten der Störung vergleichen lassen. So fand Seidel (1935) nach Brennung von Libelleneiern, daß nur einzelne Ommatidien fehlten, wenn der Brenndefekt im vorderen Teil der Anlage lag, daß aber das ganze Auge fehlte bei Brennung ihres kaudalen Bereiches. In diesem Falle wurde offenbar ein Differenzierungszentrum zerstört. Das trifft bei den hier geschilderten Versuchen mit *Drosophila* offenbar nicht zu, denn Bestrahlung junger Altersklassen des 3. Larvenstadiums, bei der das hintere Auge von der Störung betroffen wird, hat keinen Einfluß auf die Ausbildung des vorderen Auges. Nach Umbach (1934) beginnt die Ommatidiendifferenzierung bei der Mehlmotte *Ephestia* dorsokaudal und schreitet rostral- und ventralwärts über die Anlage fort. Das gleiche fand Burke (1956) bei *Doleschallia*. Die Hauptrichtung des Zuwachses beim Rückenschwimmerauge (Lüdtke 1941) ist ebenfalls ventrorostral. In diesen Fällen ist der Vorgang der Differenzierung selbst beobachtet. Entsprechende Beobachtungen

liegen von *Drosophila* nicht vor. STEINBERG (1943) berichtet nichts von einer bestimmten Region, in der die Differenzierung beginnt. Es ist jedoch *denkbar, daß auch hier die Differenzierung von hinten nach vorn fortschreitet*, und daß ihr Einsetzen in den einzelnen Gebieten durch Bestrahlung gestört wird. Im Widerspruch hierzu stehen STEINBERGS Angaben, daß in den Anlagen 48stündiger Larven noch keine Differenzierung zu sehen ist. Von den *Bar*-Untersuchungen des gleichen Autors ist aber bekannt, wie schwierig der Beginn der Ommatidiendifferenzierung histologisch zu erfassen ist.

IV. Übersicht über die bei der Augenentwicklung wirksamen Faktoren

Das sich aus den bisher bekannten Daten ergebende Bild vom Ablauf der Entwicklung des *Drosophila*-Auges ist in Abb. 13 schematisch wiedergegeben. Der erste erfaßbare Schritt im Laufe der Entwicklung von Kopf und Auge bei *Drosophila* ist die *Heraussonderung der Kopfanlage aus dem Atriumdach*. Ein unpaarer Kopfsack wird im 12stündigen Embryo sichtbar, und im 16stündigen zeigt er mit der Verdickung seines hinteren Teiles die ersten Anzeichen der Bilateralität. *Vermutlich* werden hiermit *die Kopfanlagen geschaffen*. Zu Beginn des 1. Larvenstadiums, vielleicht auch im späten Embryo, sind sie jedenfalls sehr wahrscheinlich schon vorhanden, da der *Bar*-Faktor offenbar schon zu dieser Zeit seine Wirkung auf die Größe der Kopfanlage ausgeübt hat. Die oben (S. 349) erwähnten *Bar*-Mosaiktiere (HERSH und DE MARINIS 1938) wie auch die mit *Calliphora*-Extrakt gefütterten (CHEVAIS 1943) hatten nämlich einen normal proportionierten verkleinerten Kopf, und da innerhalb der Kopfanlage mindestens im präsumptiven Augenbereich im 1. Larvenstadium bereits ein gerichtetes Teilungswachstum herrscht, kann die am Anfang des 2. Stadiums schon sichtbare Verkleinerung der Kopfanlage der *Bar*-Tiere wohl nicht durch geringeres Wachstum während der Zeit dieser Teilungsschritte entstanden sein, da dann später ein disproportionierter Kopf hätte entstehen müssen. Mit der die Kopfanlage verkleinernden Wirkung des Faktors *Bar* ist für das Auge nur eine Verkleinerung verbunden.

Im Verlauf des *1. Larvenstadiums*, vermutlich in Zusammenhang mit den erwähnten orientierten Zellteilungen, bilden sich die in Richtung auf das Gehirn auswachsenden paarigen Peripodialsäckchen aus. In Abb. 10a—d ist die Anordnung der Zellen des präsumptiven Auges und zugleich die für seinen unteren Teil erschlossene Ausrichtung der Zellteilungen in diesem Entwicklungsabschnitt schematisch dargestellt.

Der damit erreichte Zustand, auf dem der präsumptive Augenbereich aus etwa 20 Zellen besteht, ist durch die *Bildung des Ommatidienfeldes* ausgezeichnet. Die Zellen des präsumptiven Augenbereiches werden dazu bestimmt, einen bestimmten Teil des Auges zu bilden und auf einen späteren Entwicklungsreiz mit Ommatidienbildung zu reagieren. Gleichzeitig wird in diesem Bereich die Richtung der Zellteilungsspindeln geändert und ein Teilungsintensitätsmuster geschaffen: Die Spindeln stehen von jetzt ab bevorzugt radial, d. h. etwa senkrecht zur Richtung der vorhergehenden Teilungen, und in einem Bereich des präsumptiven hinteren mittleren Auges findet von jetzt ab mindestens ein Teilungsschritt weniger statt als im übrigen Teil des Ommatidienfeldes.

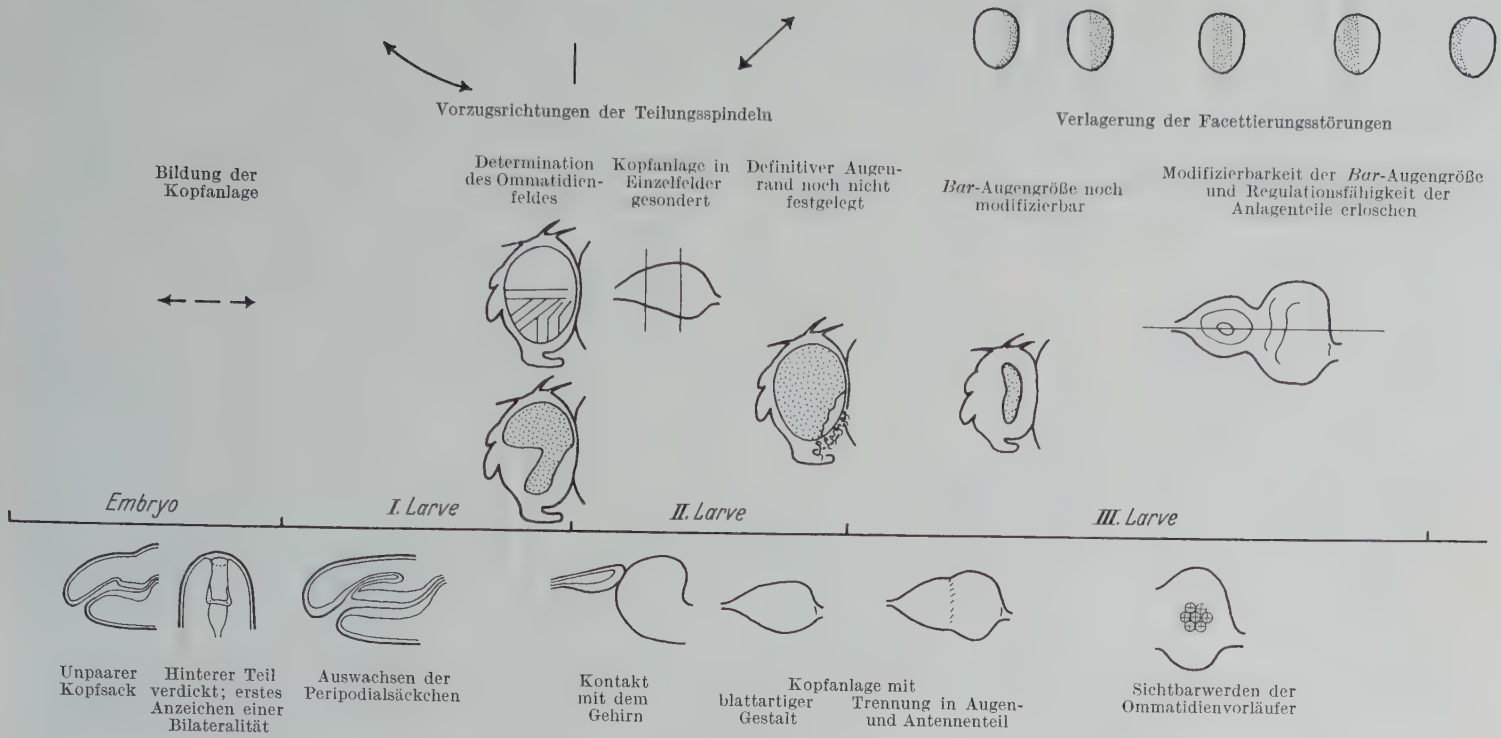

Abb. 13. Übersicht über die entwicklungsgeschichtlichen und entwicklungsphysiologischen Daten bei der Entwicklung des *Drosophila*-Auges. Über „II. Larve" und „III. Larve" ist je ein Schema der Schnittführung durch die Kopfanlagen in den Versuchen von M. Vogt dargestellt

Normalerweise muß der Bereich des Feldes so weit über den des präsumptiven Auges hinausgehen, daß die Gleichförmigkeit des später zu bestimmenden Augenumrisses nicht durch zufällige Wachstums- oder Feldgrößenschwankungen beeinträchtigt wird. Die analysierte Mutante bewirkt eine Verkleinerung des Feldbereiches, wobei der untere Feldrand in den normalen präsumptiven Augenbereich hineinrückt, so daß eine Verkleinerung und Formveränderung des Auges zustande kommt. Hiernach sowie auf Grund der neu auftretenden Orientierung der Zellteilungen und der regionalen Ungleichheit der Zellteilungsintensität kann man dem Feld einen zentrischen Charakter zusprechen, wie es in Abb. 10d angedeutet ist. Möglicherweise ist das Ommatidienfeld dizentrisch. In diesem Falle würde die Mutante Verkleinerung oder völlige Unterdrückung des unteren Zentrums bewirken.

Die Determination einzelner Teile der bisher äquipotenten Kopfanlage hat zur Folge, daß transplantierte Anlagenteile nur noch feldeigenes Material bilden und regulieren können. M. Vogt (1946) fand bei den jüngsten von ihr zerteilten Anlagen aus Larven des beginnenden 2. Stadiums bereits ein Feldmosaik vor.

Zu dieser Zeit hat die Kopfanlage bereits *Kontakt mit dem Gehirn*. Bei ihrem Wachstum im Laufe des *2. Stadiums* treten 3 Mitosewellen auf. Durch leichte Abweichungen von diesem Teilungsmodus wird die Anzahl der Anlagezellen im Laufe des Stadiums möglicherweise etwas mehr als verachtfacht. Die Dauer der einzelnen Mitosewellen, innerhalb derer sich die Zellenanzahl jeweils ungefähr verdoppelt, wird infolge wachsender Dauer der einzelnen Mitosezyklen mit zunehmendem Larvenalter länger.

Die Spindeln sind in dieser Zeit, mindestens im Gebiet der präsumptiven unteren Augenhälfte, bevorzugt radial gestellt (Abb. 10e, f). Entwickelt sich die neue Mutante in dieser Zeit bei einer Temperatur von 25° C, so wird das Wachstum gehemmt. Die Folge ist eine Verkleinerung und Formveränderung des Auges und eine unproportionierte Verkleinerung des Kopfes.

Bis gegen Ende des 2. Larvenstadiums behält die Kopfanlage, der Boden des Peripodialsackes, blattartige Gestalt. Noch am Ende des Stadiums sind mindestens die Zellen des präsumptiven Augenrandes nicht fest determiniert. Sie können unter ihren Nachkommen noch nebeneinander Ommatidien- und Kopfepithelzellen haben. Der Augenumriß wird also erst später festgelegt. Der präsumptive Augenbereich besteht jetzt aus 100—150 Zellen.

Zu Beginn des *3. Larvenstadiums* wird die Gliederung der Kopfanlage in den vorn liegenden Antennenteil und den hinten liegenden Augenteil sichtbar. Die Zellen des präsumptiven Augenbereiches machen im Mittel noch 2—3 Vermehrungsteilungen durch, ehe etwa in der Mitte des Stadiums die Differenzierung der Ommatidien beginnt. In der 72stündigen Larve sind die ersten Vorläufer der Ommatidien beobachtet. Möglicherweise beginnt am Augenhinterrand die Differenzierung schon am Anfang des 3. Stadiums.

Die Regulationsfähigkeit transplantierter Anlagenteile läßt in der Mitte des 3. Stadiums nach und ist am Ende des Stadiums völlig erloschen.

Die Mutation *Bar* hat außer der Verkleinerung der Kopfanlage in der Embryonalzeit noch die weitere Wirkung, daß nur von einem Teil des Ommatidienfeldes Ommatidien gebildet werden. Diese Wirkung kann bis zur Mitte des 3. Stadiums modifikatorisch aufgehoben werden, später nicht mehr. Danach wird

in der Mitte des 3. Stadiums der Augenumriß endgültig festgelegt. Die Art der Festlegung ist fraglich; möglicherweise beruht sie auf einem Prozeß, der hinten im Auge beginnt und von hinten nach vorn fortschreitet. Dafür sprechen die Beobachtungen von De Marinis an Mosaiktieren und die Facettierungsstörungen nach Röntgenbehandlung verschieden alter Larven des 3. Stadiums.

Am *Ende der Larvenentwicklung* ist die Anzahl der Ommatidienvorläufer auf die der Ommatidien im Auge angewachsen. Die weitere Differenzierung der Ommatidien findet in der Vorpuppe und Puppe statt.

Zusammenfassung

1. Durch Röntgenbehandlung von w^+/w- und w/w^{co}-Individuen auf verschiedenen Ei- und Larvenstadien von *Drosophila melanogaster* wurden Mosaikflecken in den Augen der Imagines induziert. Aus der Häufigkeit der verschiedenen Flecktypen ist zu schließen, daß unter den bei w^+/w-Individuen auftretenden weißen Flecken etwa 75% durch somatischen Austausch bedingt sind. Der übrige Teil der Flecken entsteht zum größten Teil durch Chromosomenmutationen, und ein geringer Prozentsatz durch Genmutationen. Die Fleckauslösung findet bevorzugt in den Frühstadien der Mitose statt.

2. Da die von anderen Autoren gefundene Abweichung der Fleckhäufigkeit von einer linearen Dosisabhängigkeit wie auch die Abhängigkeit der Fleckauslösung von der Dosisleistung gegen ein Eintreffereignis, andererseits die absolute Häufigkeit, mit der somatischer Austausch ausgelöst werden kann, nämlich in etwa 3% der Zellen bei 1200 r, gegen ein Zweitreffereignis spricht, entsteht somatischer Austausch offenbar nicht durch trefferbedingte Bruchereignisse.

3. Die Zellenanzahl der Kopfanlage wächst im Laufe des 2. Larvenstadiums auf mindestens das 8fache, höchstens das 12fache des Ausgangswertes, wobei die Zunahme der Zellenanzahl in Mitosewellen vor sich geht, deren Dauer im Laufe des Stadiums durch eine Verlängerung der einzelnen Mitosezyklen zunimmt.

4. Eine Analyse der Größe, Form und Lage der Mosaikflecken ergibt, daß am Ende des 1. Larvenstadiums, zu einer Zeit, in der das präsumptive Auge etwa 20 Zellen umfaßt, ein Ommatidienfeld, d. h. ein zur Bildung von Ommatidien befähigter Bereich geschaffen wird. Gleichzeitig entsteht ein neues Muster der Zellteilungstätigkeit im präsumptiven Auge hinsichtlich der Orientierung der Teilungen und der Teilungsintensität.

5. Die Untersuchung der übergreifenden Mosaikflecken, d. h. der Flecken, die sowohl im Auge als auch auf dem angrenzenden Kopfepithel sichtbar werden, zeigt, daß die definitive Abgrenzung des Auges erst später, jedenfalls nicht vor dem Ende des 2. Larvenstadiums erfolgt. Wahrscheinlich findet dieser Vorgang erst in der Mitte des 3. Stadiums statt, wie auf Grund der von anderen Autoren untersuchten modifikatorischen Beeinflußbarkeit der *Bar*-Augengröße bis zu diesem Zeitpunkt anzunehmen ist.

6. Im Laufe des 3. Stadiums werden durch Röntgenbehandlung in einer den Augenbereich von hinten nach vorn durchwandernden sensiblen Zone Unregelmäßigkeiten im Facettenmuster hervorgerufen. Diese Erscheinung steht möglicherweise im Zusammenhang mit der unter 5. erwähnten Augenabgrenzung.

7. Eine neu aufgetretene Augenformmutante, möglicherweise ein *Lobe*-Allel, zeigt sehr variable, meistens auf die untere Augenhälfte beschränkte Defekte,

die nach Lage und Form den röntgeninduzierten Mosaikflecken ähneln. Nach der Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Störungstypen im Vergleich mit der der verschieden großen Mosaikflecken fällt die Wirkung des Faktors zeitlich zusammen mit der Schaffung des Ommatidienfeldes. Sie ist daher am besten als eine Verkleinerung des Feldes zu verstehen.

Herr Prof. Dr. K. Henke gab die Anregung zu diesen Untersuchungen; für stete Förderung und Kritik schulde ich ihm großen Dank.

Literatur

Becker, H. J.: Zur Entwicklungsphysiologie des *Drosophila*-Auges. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Hamburg 1956, S. 256—264, 1957. — Bodenstein, D.: The postembryonic development of *Drosophila*. In: Biology of *Drosophila* herausgeg. von M. Demerec. New York: John Wiley & Sons 1950. — Bridges, C. B., and K. S. Brehme: The mutants of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Publ. **1944**, 552. — Burke, J. A.: The differentiation of the compound eyes of *Doleschallia bisaltida* Cramer (Lepidopt.). Anat. Rec. **125**, 619—620 (1956). — Casteel, D. B.: Histology of the eyes of x-rayed *Drosophila*. J. of Exper. Zool. **53**, 373—385 (1929). — Chen, T. Y.: On the development of imaginal buds in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. J. of Morph. **47**, 135—199 (1929). — Chevais, S.: Déterminisme de la taille de l'oeil chez le mutant *Bar* de la Drosophile. Intervention d'une substance diffusible specifique. Bull. biol. France et Belg. **77**, 293—364 (1943); **78**, 71—110 (1944). — Danneel, R., u. G. Hannes: Bestimmung der relativen Augenbreite bei der Mutanten „*Bar*" von *Drosophila melanogaster* und ihrer Veränderung durch Bar^+-wirksame Extrakte. Z. Naturforsch. **6**b, 451—458 (1951). — De Marinis, F.: Bar-eyed mosaics in *Drosophila*. J. Hered. **34**, 227—229 (1943). — Action of the *Bar* series in relation to temperature studied by means of *Minute-n* mosaic technique. Genetics **37**, 75—89 (1952). — Demerec, M., and H. Slizynska: *Mottled white 258-18* of *Drosophila melanogaster*. Genetics **22**, 641—649 (1937). — Driver, E. C.: The temperature-effective period — the key to eye facet number in *Drosophila*. J. of Exper. Zool. **46**, 317—332 (1926). — Enzmann, E. V., and C. P. Haskins: The development of the imaginal eye in the larva of *Drosophila melanogaster*. J. of Morph. **63**, 63—73 (1938). — Fano, U., and M. Demerec: Measurements of frequency of dominant lethals induced in sperm of *Drosophila melanogaster* by X-rays. Genetics **26**, 151 (1941). — Friesen, H.: Somatische Deletionen des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **68**, 436—442 (1935). — Röntgenmorphosen bei *Drosophila*. Roux' Arch. **134**, 147—165 (1936). — Untersuchungen über künstliche Auslösung von Crossing-over in der Meiosis und Mitosis. Biol. Ž. (Mosc) **6**, 1055—1136 (1937). Russisch mit ausf. dtsch. Zus.fass. — Gersh, E. S.: Pigmentation in a *mottled white* eye due to position effect in *Drosophila melanogaster*. Genetics **37**, 322—338 (1952). — Hadorn, E., G. Bertani u. J. Gallera: Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genitalimaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*. Roux' Arch. **144**, 31—70 (1949). — Hadorn, E., u. H. Gloor: Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genitalmaginalscheibe von *Drosophila*. Rev. suisse Zool. **53**, 495—501 (1946). — Heitz, E.: Die somatische Heteropyknose bei *Drosophila melanogaster* und ihre genetische Bedeutung. Z. Zellforsch. **20**, 237—287 (1934). — Hersh, A. H., and F. De Marinis: Bar-eyed mosaics in *Drosophila melanogaster*. Genetics **23**, 548—561 (1938). — Kaliss, N.: The effect on development of a lethal deficiency in *Drosophila melanogaster:* with a description of the normal embryo at the time of hatching. Genetics **24**, 244—270 (1939). — Krafka, J.: The effect of temperature upon facet number in bar-eyed mutant of *Drosophila*. J. Gen. Physiol. **2**, 409—464 (1920). — Development of the compound eye of *Drosophila melanogaster* and its bar-eyed mutant. Biol. Bull. **47**, 143—148 (1924). — Kühn, A., u. D.-L. Woywod: Unregelmäßige Chromosomenverteilung durch eine Mutation bei *Ephestia kühniella* Z. Z. Naturforsch. **1**, 38—44 (1946). — Lefevre, G. J.: The relative effectiveness of fast neutrons and γ-rays in producing somatic crossing over in *Drosophila* (Abstr.). Rec. Gen. Soc. Amer. **16**, 40 (1947). — Mutation in germinal and somatic tissue. DIS **23**, 91 (1949). — X-ray induced genetic effects in germinal and somatic tissue of *Drosophila melanogaster*. Amer. Naturalist **84**, 341—365 (1950). — Luce, W. M.: Effects of oxygen on development and facet number in a *bar infra-*

bar strain of *Drosophila melanogaster*. Genetics **25**, 126–127 (1940). – Luce, W. M., H. Quastler and H. B. Chase: Reduction in facet number in bar-eyed *Drosophila* by X-rays. Genetics **36**, 488—499 (1951). – Lüdtke, H.: Die embryonale und postembryonale Entwicklung des Auges bei *Notonecta glauca* (Hemiptera-Heteroptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere **37**, 1—37 (1941). — Ma, Sung-Yün: Experimentelle Untersuchungen über Hitzemodifikationen des Flügels von *Drosophila melanogaster*. Roux' Arch. **142**, 508—618 (1944). — Maas, W. K.: Spectrophotometric and chromatographic adsorption analysis of the red eye pigment of *Drosophila melanogaster*. Genetics **33**, 177—190 (1948). — Mainx, F.: Analyse der Genwirkung durch Faktorenkombination. Versuche mit den Augenfarbenfaktoren von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **75**, 256—276 (1938). — Margolis, O. S.: Studies on the *Bar* series of *Drosophila melanogaster*. II. The temperature-effective period for facet determination in *Bar* and *Bar vestigial*. Genetics **20**, 207—222 (1935). — Studies on the *Bar* series of *Drosophila*. V. The effects of reduced atmospheric pressure and oxygen on facet number in bar-eyed *Drosophila*. Genetics **24**, 15—21 (1939). — Marquardt, H.: Neuere Auffassungen über einige Probleme aus der Pathologie der Kernteilung. Naturwiss. **37**, 416—424, 433—438 (1950). — Medvedev, N. N.: Genes and development of characters. I. The study of the growth of imaginal discs of eyes of the wild type larvae and three mutants — *Lobe*^{c}, *glass*^{2} and *eyeless*^{2} — in *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **70**, 55—72 (1935). — Morgan, Th., C. B. Bridges and A. H. Sturtevant: The genetics of *Drosophila*. Bibliogr. genet. (s'Gravenhage) **2** (1925). — Muller, H. J.: An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. J. Genet. **40**, 1—66 (1940). — Some present problems in the genetic effects of radiation. J. Cellul. a. Comp. Physiol. **35**, Suppl. 1, 9—70 (1950). — Parker, D. R.: Observations on crossing over induced by X-rays in the males of *Drosophila*. Genetics **33**, 304—310 (1948). — Patterson, J. T.: The production of mutations in somatic cells of *Drosophila melanogaster* by means of X-rays. J. of Exper. Zool. **53**, 327—372 (1929). — Proof that the entire chromosome is not eliminated in the production of somatic variation by X-rays in *Drosophila*. Genetics **15**, 141—149 (1930). — Pilkington, R. W.: Facet mutants of *Drosophila*. Proc. Zool. Soc. Lond. A **111**, 199—222 (1941—1942). — Poulson, D. F.: Histogenesis, organogenesis and differentiation in the embryo of *Drosophila melanogaster*. In: Biology of *Drosophila*, herausgeg. von M. Demerec. New York: John Wiley & Sons 1950. — Seidel, F.: Der Anlagenplan im Libellenei. Roux' Arch. **132**, 671—751 (1935). — Shapiro, N. I.: X-ray dosage and the frequency of somatic mosaics. DIS **15**, 17 (1941). — Steinberg, A. G.: A reconsideration of the mode of development of the *Bar* eye of *Drosophila melanogaster*. Genetics **26**, 325—346 (1941a). — Studies on modifier of *Bar*. A mutant which affects the expression of the *Bar* mutation of *Drosophila melanogaster*. Genetics **26**, 440—451 (1941b). — The development of the wild type and *Bar* eyes of *Drosophila melanogaster*. Canad. J. Res. **21**, 277—283 (1943). — Studies on the development of the eye: Evidence that the L^{2}, L^{4}, L^{5} and ey^{2} mutants of *Drosophila melanogaster* develop in a manner similar to *Bar*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **30**, 5—13 (1944). — Stern, C.: Somatic crossing over and segregation in *Drosophila melanogaster*. Genetics **21**, 625—730 (1936). — Sturtevant, A. H.: The *claret* mutant type of *Drosophila simulans*: a study of chromosome elimination and of cell-lineage. Z. wiss. Zool. **135**, 323—356 (1929). — Ulrich, H.: A convenient method of collecting large numbers of *Drosophila* eggs homogeneous in age. DIS **27**, 124–125 (1953). — Umbach, W.: Entwicklung und Bau des Komplexauges der Mehlmotte *Ephestia kühniella* Zeller nebst einigen Bemerkungen über die Entstehung der optischen Ganglien. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **28**, 561–594 (1934). — Vogt, M.: Zur labilen Determination der Imaginalscheiben von *Drosophila*. I. Verhalten verschiedener Imaginalanlagen bei operativer Defektsetzung. Biol. Zbl. **65**, 223–238 (1946). — Zur labilen Determination der Imaginalscheiben von *Drosophila*. III. Analyse der Manifestierungsbedingungen sowie der Wirkungsweise der zu Antennen- und Palpusverdoppelungen führenden Genmutation *Df*$^{dr\text{-}L}$. Biol. Zbl. **66**, 81–105 (1947). — Whittinghill, M.: Some effects of gamma rays on recombination and on crossing over in *Drosophila melanogaster*. Genetics **36**, 332–355 (1951). — Zeleny, Ch.: The temperature coefficient of the heterozygote with an expression for the value of the germinal difference in terms of an environmental one. Biol. Bull. **44**, 105—112 (1923).

Dr. Hans Joachim Becker, Göttingen
Zoologisches Institut der Universität, Berliner Straße 28

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 374—387 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GESCHLECHTSDIFFERENZIERUNG BEI HAPLOIDEN UND DIPLOIDEN GAMETOPHYTEN VON *BARBULA UNGUICULATA* (HUDSON) HEDWIG*

Von

Anita Hoffmann

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Mai 1957)

A. Einleitung

Die ersten grundlegenden Experimente über die Geschlechtsvererbung bei diözischen Laubmoosen mit haplogenotypischer Geschlechtsbestimmung machten É. und Ém. Marchal (1907). Sie erzeugten durch Regeneration von diploiden Sporophyten, in denen weibliche und männliche Anlagen vereint sind, diploide Gametophyten und fanden, daß bei den von ihnen untersuchten bivalenten Rassen von *Bryum argenteum*, *Bryum caespititium* und *Mnium hornum* weibliche und männliche Geschlechtsorgane ausgebildet waren. Bei einer späteren Wiederholung dieser Versuche mit *Bryum caespititium* konnte v. Wettstein (1924) dieses Ergebnis bestätigen. Die Untersuchungen von bivalenten Rassen anderer diözischer Laubmoose, wie *Splachnum sphaericum* (Schweizer 1923, Bornhagen 1930), *Splachnum vasculosum* (Arens 1939), *Eurhynchium Stokesii* (Moutschen 1954) und *Bryum capillare* (Hoffmann 1956) zeigen, daß die durch die Polyploidisierung induzierte Zweigeschlechtigkeit außerordentlich verschiedenartig ausgeprägt ist. Daher schien es wünschenswert, solche Regenerationsversuche auch auf andere haplodiözische Moose auszudehnen, um dadurch weitere Aufschlüsse über die bei der Geschlechtsdifferenzierung wirksamen Erbanlagen zu erhalten.

B. Material und Methode

Die hier untersuchten Kulturen von *Barbula unguiculata* (Hudson) Hedwig stammen von Rasen ab, die im Botanischen Garten in Freiburg im November 1954 gesammelt wurden. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich in den Ausgangsrasen vollausgereifte Sporogone, deren Sporen zu Einsporkulturen ausgesät wurden, und junge Sporogone, die zu den Regenerationsversuchen verwendet wurden. Auf diese Weise ist die Einheitlichkeit des Ausgangsmaterials für die haploiden und diploiden Rassen weitgehend gewährleistet. *Barbula unguiculata* ist eine außerordentlich variable Art, bei der sich mehrere Formenkreise unterscheiden lassen; jedoch entsprechen die von uns kultivierten Rasen von *Barbula unguiculata* nach der Diagnose von Limpricht (1885) und Mönkemeyer (1927) der typischen Form.

Die Methode zur sterilen Ankeimung und späteren Aufzucht der Kulturen sowie zur Regeneration der Sporophyten entspricht der für *Bryum capillare* (Hoffmann 1956) beschriebenen in allen wesentlichen Punkten. Das Kultursubstrat für die Sporenaussaaten sowie für die zur Regeneration ausgelegten Sporogonstücke war Benecke-Agar (Agar 1,5%, Benecke-Nährlösung 0,05%) in Petrischalen. Die Kulturen standen bis zum Auspflanzen in Lichtkästen, deren Beleuchtungsstärke etwa 2000 Lux beträgt. Wir gaben abwechselnd

* Die vorliegende Arbeit ist ein weiterer Beitrag zur Moosgenetik (vgl. Hoffmann 1956). Die notwendigen Mittel zu diesen Untersuchungen stellte die Deutsche Forschungsgemeinschaft zur Verfügung, wofür ihr bestens gedankt sei.

14 Std Licht und 10 Std Dunkelheit. Nachdem die ersten Stämmchen gebildet waren, wurden die Pflanzen in sterilisierte Töpfe, die mit einem Gemisch von gedämpfter Erde und Kies beschickt waren, pikiert. Die Topfkulturen standen in den Nordgewächshäusern des Institutes.

Zu den Regenerationsversuchen wurden 14–17 mm lange Sporogone verwendet, die gerade mit der Kapselbildung begonnen hatten. Vor dem Zerschneiden in drei Teilstücke wurden die Sporogone durch mehrmaliges Abstreifen auf sterilisierten Agarnährböden von anhaftenden Infektionskeimen soweit befreit, daß die aus den Schnittflächen herauswachsenden Regenerationsprotonemen in ihrem Wachstum nicht wesentlich behindert waren.

Der Terminologie v. Wettsteins folgend, werden die haploiden Gametophyten mit ihren dazugehörigen diploiden Sporophyten als *univalens*-Rasse bezeichnet. Die apospor entstandenen diploiden Gametophyten mit den tetraploiden Sporophyten sind eine *bivalens*-Rasse.

C. Untersuchungsergebnisse

I. Geschlechtsverteilung der haploiden Gametophyten

Seit den Untersuchungen von É. und Ém. Marchal (1904/06) gilt die genotypisch bestimmte Getrenntgeschlechtigkeit von *Barbula unguiculata* als bewiesen. An Hand einiger Einsporkulturen konnten sie zeigen, daß aus je einer Spore entweder ein rein weiblicher oder ein rein männlicher Gametophyt hervorgeht. Um das Zahlenverhältnis der Geschlechter zu einander an einem größeren Material zu überprüfen, wurden von uns mehrere Serien von Einsporkulturen angelegt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1[1]

Datum	Anzahl der Sporen aus einer Kapsel	Gekeimt	Weiblich	Männlich	Ohne Gametangien
11. 11. 54	100	13	7	6	—
30. 11. 54	100	39	18	21	—
30. 11. 54	100	16	8	8	—
30. 11. 54	100	18	7	11	—
30. 11. 54	100	36	19	17	—
30. 11. 54	100	27	14	13	—
30. 11. 54	100	53	27	26	—
31. 10. 55	60	19	10	9	—
31. 10. 55	60	34	16	18	—
28. 11. 55	60	11	6	4	1
Summe	880	266	132	133	1

Die aus je einer Spore entstandenen Gametophytenrasen waren streng unisexuell. Aus unseren Versuchen geht weiterhin hervor, daß weibliche und männliche Pflanzen stets im Verhältnis 1:1 auftreten. Auf Grund dieses Spaltungsverhältnisses ist die Annahme genotypischer Geschlechtsbestimmung gerechtfertigt.

II. Geschlechtsdimorphismus der haploiden Gametophyten

Einen ersten Hinweis auf das Vorhandensein eines sexuellen Dimorphismus bei *Barbula unguiculata* gibt bereits Limpricht (1885) durch eine Gegenüberstellung von kräftigen weiblichen und zarten männlichen Pflanzen. É. und

[1] Auffallend sind die niedrigen Keimprozentsätze (durchschnittlich 30%), die in diesen Versuchen zu beobachten sind. Wesentlich bessere Erfolge lassen sich erzielen, wenn die Sporenaussaaten erst im Januar vorgenommen werden. Bei einem Versuch vom 11. 1. 57 ergab sich für 500 Sporen, die aus 10 verschiedenen Kapseln stammten, ein durchschnittlicher Keimprozentsatz von 83%. Die geringe Keimfähigkeit der Sporen in den Aussaaten vom Herbst 1954 und 1955 sind anscheinend darauf zurückzuführen, daß die Sporen zu diesem Zeitpunkt noch nicht voll ausgereift waren.

ÉM. MARCHAL (1904/06) beobachteten außer diesem Größenunterschied eine dunklere Grünfärbung der weiblichen Gametophyten.

Genauere Untersuchungen und Sporenmessungen an unserem Material zeigten, daß in den ersten Entwicklungsstadien der Haplophase — Spore und Protonema — weibliche und männliche Individuen gleichgestaltet sind. Auch in der Keimfähigkeit besteht zwischen den weiblich und männlich determinierten Sporen kein Unterschied, denn sowohl bei den Sporenaussaaten mit relativ hohen, als auch bei denjenigen mit niedrigen Keimprozentsätzen entstehen beide Geschlechter in gleicher Häufigkeit. Ein Geschlechtsdimorphismus ist erst bei der Ausdifferenzierung der Moosstämmchen zu erkennen. Bereits vor der Anlage der Gametangienstände weichen weibliche und männliche Pflanzen in der Größe und Ausfärbung voneinander ab. Abb. 1 zeigt zum Vergleich eine große weibliche und eine kleine männliche Pflanze nebeneinander.

Abb. 1. Haploides weibliches (links) und männliches (rechts) Moosstämmchen. Vergr. 3:1

Zur genaueren Ermittlung der Größenunterschiede wurden je 30 gleichaltrige weibliche und männliche Stämmchen und Blätter gemessen. Die Länge und Breite der Blätter wurde mit Hilfe des Okularmikrometers gemessen. Ihre Länge wurde an der Lamina, direkt neben der Mittelrippe, bestimmt. Die Breite der Laubblätter (Abb. 2) von *Barbula unguiculata* ist, abgesehen von der Spitze, überall gleich und wurde in der Blattmitte auf der halben Höhe der Längsachse gemessen.

Die mittlere Länge der größeren weiblichen Stämmchen beträgt 31,8 mm, die der männlichen dagegen nur 27 mm. Ebenso wie die Stämmchen sind auch die weiblichen Blätter größer. Sie sind im Mittel 2400 μ lang und 559 μ breit. Die entsprechenden Maße bei den männlichen Blättern betragen dagegen nur 1798 μ in der Längsrichtung und 513 μ in der Querrichtung. Bei den weiblichen und männlichen Blättern, die sich gestaltlich und in ihrem zellulären Aufbau gleichen, sind die Unterschiede lediglich durch Grünfärbung und Größe bedingt.

Die Größe eines Organes hängt bei gleicher Zellgestalt von der Zahl und Größe der Zellen ab. Es fragt sich nun, sind die kleineren männlichen Blätter auf eine Verminderung der Zellenzahl oder auf eine Verkleinerung des Zellvolumens zurückzuführen? Zur Beantwortung dieser Frage wurden von je 10 weiblichen und männlichen Pflanzen die 3 ersten Blätter unter den Gametangienständen abgetrennt, und die Zellen der Spreite in der Längs- und Querrichtung ausgezählt. Da die Größe und Form der Zellen von der Spitze zur Basis wechselt,

Tabelle 2

	Blattlänge in μ	Zellenzahl in der Längsachse	Blattbreite in μ	Zellenzahl in der Querachse	Zellänge in μ	Zellbreite in μ	Zelldicke in μ	Zellvolumen in μ^3
Weiblich . .	2400	162,5	559	22,5	11,40	9,51	6,04	654,80
Männlich. .	1798	127,7	513	20,3	11,26	9,72	5,99	655,67

Es sind Mittelwerte angegeben. In den Spalten 1—4 sind sie aus jeweils 30 Meßwerten, in den Spalten 5—7 aus jeweils 600 Meßwerten berechnet.

wurden zum Vergleich der Zellvolumina von jedem Blatt 20 in der Querachse liegende Zellen der Lamina gemessen. Bei diesen, in der Aufsicht quadratischen oder rechteckigen Zellen läßt sich die Länge und Breite mit Hilfe des Okularmikrometers gut bestimmen. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Aus den vergleichenden Messungen ergibt sich, daß die Größenzunahme der weiblichen Blätter allein auf eine Vermehrung der Zellenzahl zurückzuführen ist; denn in ihren Zellgrößen stimmen die verschiedengeschlechtigen Blätter vollkommen überein.

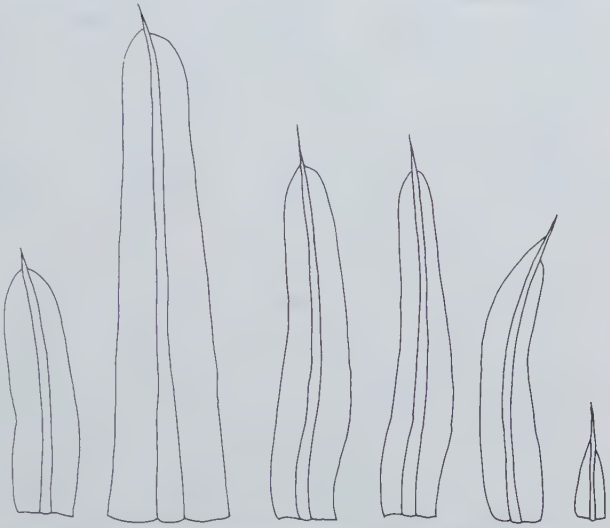

Abb. 2. Haploides Laubblatt (links) und haploide weibliche Perichätialblätter. Vergr. 22:1.

Die kräftigeren weiblichen Pflanzen sind außer durch ihre Größe zusätzlich durch eine dichtere Aufeinanderfolge der Blätter am Stämmchen charakterisiert. Sie entwickeln 1—3 schlanke, knospenförmige Archegonienstände, die neben einigen wenigen Paraphysen 10—20 Archegonien enthalten. Die den Archegonienstand sehr dicht umschließenden Perichätialblätter (Abb. 2) sind kahnförmig gefaltet. Ihre Lamina ist überwiegend aus kleinen, quadratischen und papillösen

Abb. 3. Haploide männliche Perichätialblätter. Vergr. 22:1

Zellen aufgebaut. Lediglich die Zellen am Blattgrund sind verlängert und warzenlos und weichen auch durch ihre gelbliche Farbe von der typischen Form ab. In ihrem zellulären Aufbau und in ihrer Gestalt entsprechen die weiblichen Perichätialblätter den Laubblättern, nur sind sie bedeutend länger als diese.

Im Gegensatz zu den weiblichen Gametangienständen stehen die 5—15 Antheridien in den kleinen, kugeligen Antheridienständen zwischen vielen Paraphysen. Die Paraphysen der weiblichen und männlichen Pflanzen stimmen in ihrer Gestalt überein. Die männlichen Perichätialblätter (Abb. 3) unterscheiden sich sowohl in der Form, als auch im zellulären Aufbau von den Laubblättern und damit

natürlich auch von den weiblichen Perichätialblättern. Sie sind im Gegensatz zu diesen breit und kaum gefaltet. Bei den lanzettförmigen, jüngsten Perichätialblättern ist die gesamte Lamina aus langgestreckten, warzenlosen Zellen aufgebaut. Die älteren, äußeren Perichätialblätter, die den Übergang zu den Laubblättern bilden, zeigen lediglich an ihrer Spitze, die sich deutlich von dem verbreiterten Blattgrund abhebt, die quadratischen, papillösen Zellen der Laubblätter. Den Hauptanteil bilden aber auch in diesem Falle die hellen, rechteckigen und warzenlosen Zellen des Blattgrundes.

Außer durch ihre morphologischen Merkmale sind die männlichen Gametophyten durch eine frühzeitigere Ausbildung ihrer Gametangien gekennzeichnet. *Barbula unguiculata* ist also proterandrisch, und die Antheridien werden 14 Tage vor den Archegonien entwickelt.

III. Geschlechtsverteilung der diploiden Gametophyten

Barbula unguiculata zeichnete sich in allen Versuchen durch die gute Regenerationsfähigkeit seiner Sporophyten aus. Die meisten Regenerationsprotonemen entstanden aus Fragmenten der Kapsel, jedoch sind durchaus, wenn auch in geringerer Zahl, Regenerate aus Setastücken zu erhalten. Die in den Jahren 1954 und 1955 angelegten Regenerationsserien sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3

Versuchsbeginn	Anzahl der ausgelegten Sporogene	Anzahl der Regenerations-Protonemen nach einem Monat	Regenerationsprozentsatz %
2. 11. 54	300	130	43
24. 10. 55	80	26	33
9. 11. 55	64	32	50
15. 12. 55	80	44	55

Nicht alle der zunächst entwickelten diploiden Regenerationsprotonemen wuchsen zu auswertbaren Rasen heran, jedoch sind vom Jahre 1954 noch 57 und vom Jahre 1955 insgesamt noch 80 kräftige Topfkulturen erhalten.

Da das Hauptinteresse der geschlechtlichen Differenzierung der diploiden Gametophyten galt, sind alle anderen durch die Polyploidisierung bedingten Abänderungen lediglich in bezug auf die Fragestellung bearbeitet worden. Ganz allgemein sei hier auf das für bivalente Rassen charakteristische, langsame Wachstum und die in den meisten Fällen konstatierbare Organvergrößerung hingewiesen. Ebenso wurden die für polyploide Moose typischen, monströsen Blätter, mit zerlappter Spreite und Rippenmißbildungen, des öfteren beobachtet. Um zu überprüfen, ob bei den diploiden Regenerationsgametophyten die nach der Kern-Plasmarelation zu erwartende Zellvergrößerung eingetreten ist, wurden Zellvolumenmessungen vorgenommen. Ebenso wie bei den Haploiden, wurde von 30 Blättern einjähriger Pflanzen zunächst die Länge und Breite sowie die Zellenzahl in der Längs- und Querachse bestimmt. Daraufhin wurde die Länge, Breite und Höhe von je 20 in der Querachse dieser Blätter liegenden Laminazellen gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4

Blattlänge in μ	Zellenzahl in der Längsachse	Blattbreite in μ	Zellenzahl in der Querachse	Zellänge in μ	Zellbreite in μ	Zelldicke in μ	Zellvolumen in μ^3
2625	147,3	580	16,9	16,54	11,15	9,26	1707,73

Es sind die Mittelwerte angegeben. Diese errechnen sich in den Spalten 1—4 aus jeweils 30 Meßwerten und in den Spalten 5—7 aus jeweils 600 Meßwerten.

Ein Vergleich mit den entsprechenden Maßen bei den Haploiden (Tabelle 2) zeigt bei den Diploiden sowohl eine Zunahme der Blättlänge als auch der Blattbreite. Diese Ver-

größerung kann nun entweder, wie es bei den haploiden weiblichen Blättern der Fall war, durch Zellvermehrung verursacht werden, oder aber auf einer Volumenzunahme der einzelnen Zellen beruhen. Für die diploiden Blätter von *Barbula unguiculata* ist jedoch eine Verminderung der Zellenzahl, besonders in der Längsrichtung von der Spitze zur Basis, charakteristisch. Dagegen verhalten sich die Zellvolumina von haploiden zu diploiden Zellen wie 1:2,6; d. h., die diploiden Zellen sind deutlich vergrößert. Für die Verlängerung und Verbreiterung der diploiden Blätter ist also die Volumenzunahme ihrer Zellen verantwortlich.

Da in den, durch Regeneration von diploiden, bisexuellen Sporogonen entstandenen, bivalenten Gametophyten weibliche und männliche Anlagen vereint sind, ist Gemischtgeschlechtigkeit zu erwarten. Die *bivalens*-Rassen von *Barbula unguiculata*, die erstmalig 11 Monate nach Beginn des Regenerationsexperimentes, als die Gametangien bei dem größten Teil von ihnen entwickelt waren, untersucht wurden, waren jedoch in bezug auf die Verteilung der Geschlechtsorgane rein weiblich oder rein männlich. Auch konnte an den teilweise seit anderthalb Jahren immer wieder kontrollierten Rasen bisher keinerlei Verschiebung der einmal determinierten Eingeschlechtigkeit beobachtet werden. Die Kulturen, die bei der ersten Prüfung weder Archegonien noch Antheridien ausgebildet hatten, brachten auch im Laufe ihrer späteren Entwicklung keine Sexualorgane hervor.

Tabelle 5

Regenerationsserien	Anzahl	Weiblich	Männlich	Agam
1954	57	49 (86%)	7 (12%)	1 (2%)
1955	80	53 (66%)	2 (3%)	25 (31%)
Summe	137	102 (74%)	9 (7%)	26 (19%)

Die 137 untersuchten *bivalens*-Rassen lassen sich nach ihrer Geschlechterverteilung in die 3 Typen: weiblich — männlich und agam aufteilen. Diese 3 Ausbildungsformen kommen in unterschiedlicher Häufigkeit vor. Ihre Verteilung auf das gesamte Material ist in Tabelle 5 aufgeführt.

Unter den agamen Kulturen des Jahres 1955 sind einige, die bisher sehr langsam gewachsen sind. Es ist wenigstens von einem Teil dieser Rasen zu erwarten, daß sie im Spätsommer 1957 Sexualorgane ausbilden werden.

1. Die weiblichen Regenerationsrasen. Die weitaus größte Anzahl der untersuchten bivalenten Kulturen entwickelte an den Regenerationsprotonemen ausschließlich Stämmchen mit Archegonienständen, die bei den älteren Pflanzen bereits zum zweitenmal ausgebildet wurden.

Diese archegonientragenden Moosstämmchen (Abb. 4) übertreffen die gleichaltrigen haploiden weiblichen (Abb. 1) sowohl in der Anzahl als auch in der Größe der einzelnen Organe, wie wir es für die Blätter bereits zeigten. Durch die noch hinzukommende stärkere Verzweigung wirken die diploiden Pflanzen außerordentlich kräftig. Auch die Gametangien werden bei ihnen in sehr viel reicherem Maße hervorgebracht. An den einzelnen Stämmchen sind durchschnittlich 10, bei einigen besonders kräftigen sogar bis zu 30 Archegonienstände zu beobachten. Es ist aber nicht nur die Zahl der Gametangienstände, sondern in vielen Fällen auch diejenige der darin enthaltenen Archegonien stark vermehrt. Auch die Paraphysen sind entsprechend der allgemeinen Organvermehrung zahlreicher geworden. Das Verhältnis von Archegonien und Paraphysen ist jedoch dasselbe

wie bei den Haploiden. Die Vergrößerung der Sexualorgane wird bei dem Vergleich eines haploiden (Abb. 5a) und eines diploiden Archegoniums (Abb. 5b) besonders deutlich. Sie ist, wie bei den Blättern, auf eine Volumenzunahme der Zellen zurückzuführen. Im allgemeinen waren diese großen, diploiden Archegonien verödet. Nur ganz vereinzelt wurden bei den bivalenten Kulturen befruchtete Archegonien gefunden. Die jungen Sporophyten stellten aber bereits als Embryonen ihr Wachstum ein.

Abb. 4. Diploides Moosstämmchen mit Archegonienständen. Vergr. 3:1

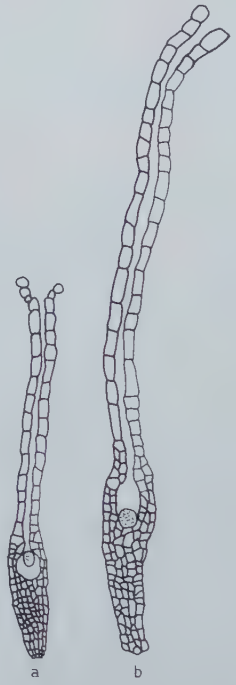

Abb. 5a u. b. a Haploides, b diploides Archegonium. Vergr. 100:1

Die einzigen Organe, die von der typischen weiblichen Form abweichen, sind die Perichätialblätter (Abb. 6). Sie sind nicht, wie die der haploiden Pflänzchen, lang und schmal, sondern lanzettförmig mit verbreitertem Blattgrund. Die äußeren lassen sich auf Grund ihrer Gestalt zwischen den typischen haploiden weiblichen und männlichen Perichätialblättern einordnen, während die inneren den männlichen vollkommen gleichen. Außerdem wird der für die haploiden männlichen Perichätialblätter charakteristische, zelluläre Aufbau bei den diploiden in allen Fällen wiederholt. Die Perichätialblätter sind bei dieser Gruppe von bivalenten Regenerationsgametophyten also die einzigen Organe, die auf das Vorhandensein einer Gemischtgeschlechtigkeit hinweisen.

Bei einigen dieser diploiden Moosstämmchen waren neben diesen durchaus normal entwickelten Organen auch solche mit ausgesprochenen Mißbildungen zu beobachten. In diesen vereinzelt vorkommenden Fällen standen z. B. in den Gametangienständen Perichätialblätter, aus deren Rippe Archegonien hervorwuchsen. Dabei ist meistens sowohl das Blatt und das Archegonium oder eines der beiden Organe, die diese Mosaikbildungen zusammensetzen, nicht

vollkommen entwickelt. Es kann, wie es Abb. 7 zeigt, die Spreite stark zugunsten der Rippe reduziert sein, und auch von dem Archegonium, das aus deren ver-

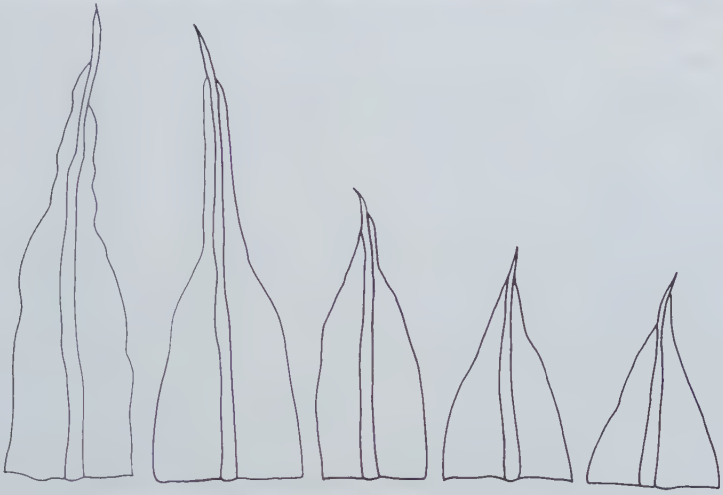

Abb. 6. Perichätialblätter der diploiden weiblichen Gametophyten. Vergr. 22:1

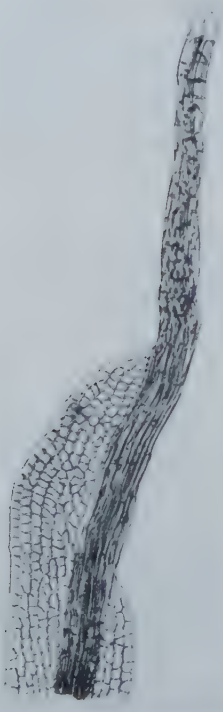

Abb. 7. Blatt mit Archegonienhals am Rippenende. Vergr. 100:1

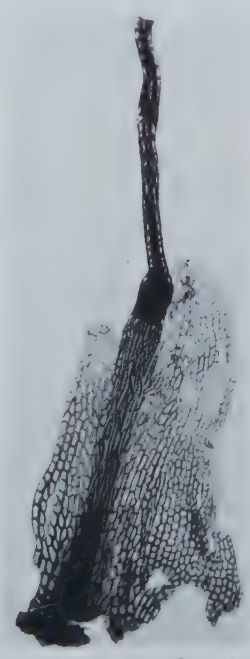

Abb. 8. Blatt mit aufsitzendem Archegonium. Vergr. 50:1

längerter Spitze hervorwächst, ist lediglich ein kurzes Stück Halsteil ausgebildet. Sehr viel vollständiger ist das Blatt (Abb. 8), dessen Rippe mit einem ausdifferenzierten Archegonium endet.

Auch an den Archegonien selbst kommen Mißbildungen vor. So standen in einigen Gametangienständen neben den normalen diploiden Archegonien (Abb. 5b) andere, die sehr viel kürzer und außerordentlich breit waren (Abb. 9). Eine weitere, allerdings sehr seltene Mißbildung ist das vollkommene Fehlen eines Bauchteiles bei den Archegonien oder ihre Unfähigkeit sich zu öffnen. Recht häufig dagegen ist bei den diploiden Archegonien der Halsteil stark verbogen.

Abb. 9. Stark verkürzte diploide Archegonien. Vergr. 100:1

2. Die männlichen Regenerationsrasen. Die Regenerationsprotonemen, an denen einzig und allein Stämmchen mit Antheridienständen entwickelt wurden, haben an der Gesamtmenge des untersuchten Materials den geringsten Anteil. Zunächst bestand der Verdacht, daß es sich bei dieser Gruppe nicht um *bivalens*-Rassen handelte. Daher wurden zur Kontrolle Volumenmessungen an Blattzellen durchgeführt. Die dadurch ermittelten Zellgrößen stimmen jedoch mit denen der anderen Diploiden vollkommen überein. Dieser Hinweis, daß es sich hier wirklich um diploide Regenerationskulturen handelt, wird durch das Vorkommen von monströsen Blättern, wie sie bei polyploiden Moosen schon öfters beschrieben wurden (SCHWEIZER 1923, v. WETTSTEIN 1924, BORNHAGEN 1930, HOFFMANN 1956), bestätigt.

Die Stämmchen dieser männlichen *bivalens*-Rassen sind größer als die der männlichen *univalens*-Rassen. Ein Vergleich mit den diploiden weiblichen

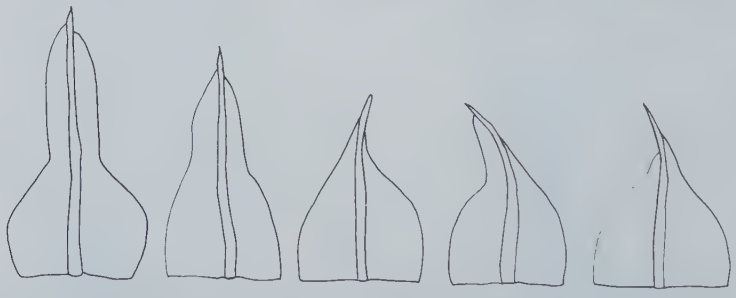

Abb. 10. Perichätialblätter der diploiden männlichen Gametophyten. Vergr. 22:1

Stämmchen zeigt jedoch, daß sie deren Größe nicht erreichen. Die bei den diploiden männlichen Pflanzen auffallend zahlreichen Gametangienstände enthalten Antheridien und Paraphysen in gleicher Anzahl und Größe wie die haploiden. Die kugeligen Gametangienstände werden von typisch männlichen Perichätialblättern (Abb. 10) umhüllt. Diese Organe sind gegenüber den haploiden lediglich etwas vergrößert. Sie zeigen niemals eine zwischen dem haploiden weiblichen und männlichen Typ vermittelnde Gestalt, wie es bei den Perichätialblättern der diploiden Archegonienstände der Fall war. Es sind also bei den rein männlichen Regenerationsgametophyten alle, für die haploiden männlichen Pflanzen charakteristischen Merkmale erhalten geblieben.

Auch bei den männlichen *bivalens*-Rassen entstehen in den Gametangienständen Mosaikbildungen zwischen Perichätialblatt und Sexualorgan. Jedoch

waren es in diesem Fall ausschließlich Antheridien, die aus der Blattrippe hervorwuchsen. Bei diesen Mischbildungen ist der Blattbestandteil meistens vollkommen ausgebildet, während der Antheridienanteil verschieden stark entwickelt sein

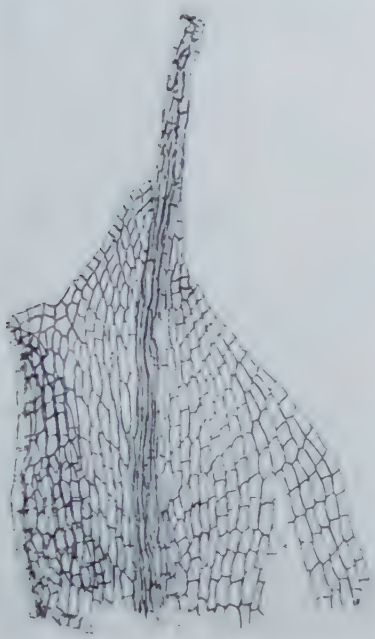

Abb. 11. Blatt mit Öffnungskappe am Rippenende. Vergr. 100:1

Abb. 12. Blatt mit aufsitzendem Antheridium. Vergr. 100:1

kann. So ist z. B. bei dem in Abb. 11 dargestellten Blatt nur die für Antheridien typische Öffnungskappe am Ende der Rippe ausgebildet. Bei anderen Mosaikbildungen dagegen (Abb. 12) sind alle für ein normales Antheridium charakteristischen Gewebe ausdifferenziert.

3. Die agamen Regenerationskulturen. Von den untersuchten Regenerationskulturen haben 19% bisher keine Sexualorgane entwickelt. Bei dieser Gruppe von bivalenten Kulturen lassen sich 2 typische Ausbildungsformen unterscheiden. Zu der ersten gehören die Rasen, die sehr langsam gewachsen sind. Sie haben bisher nur wenige beblätterte Stämmchen, die aber den anderen diploiden Stämmchen in der Größe und Gestalt entsprechen, entwickelt. Von diesen Kulturen ist anzunehmen, daß sie, wenn sie erst genügend herangewachsen sind, Gametangienstände ausbilden.

Abb. 13. Diploide „Zwergpflanze". Vergr. 3:1

Bei dem anderen Typ der agamen Kulturen werden an den Regenerationsprotonemen zwar reichlich Stämmchen gebildet, jedoch sind sie außerordentlich klein. Abb. 13 zeigt ein solches „Zwergpflänzchen" mit seinen winzigen, dicht am Stämmchen aufeinanderfolgenden Blättern. Diese stark verbogenen Blätter sind eindeutige Hemmungsformen. Ein Vergleich dieser Blättchen mit denen von normal diploiden Pflanzen zeigt, daß diese Verkleinerung durch eine starke Herabsetzung der Zellenzahl sowohl in der Längs- als auch in der Querachse der Spreite zustande kommt. Das Zellvolumen dagegen ist sogar größer als bei den normalen

Diploiden. In Tabelle 6 sind für die Blätter dieser „Zwergpflanzen" die mit den anderen Diploiden und Haploiden vergleichbaren Organ- und Zellgrößen angegeben.

Tabelle 6

Blattlänge in μ	Zellenzahl in der Längsachse	Blattbreite in μ	Zellenzahl in der Querachse	Zellänge in μ	Zellbreite in μ	Zelldicke in μ	Zellvolumen in μ^3
503	28,4	302	9	15,7	12,22	12,29	2357,88

Es sind Mittelwerte angegeben. In den Spalten 1—4 sind sie aus jeweils 10 Meßwerten, in den Spalten 5—7 aus jeweils 100 Meßwerten berechnet.

Diese Stämmchen sind in ihrem Wachstum so stark gehemmt, daß sie bislang keine Sexualorgane entwickelt haben.

D. Diskussion

I. Geschlechtsverteilung und Geschlechtsdimorphismus der haploiden Gametophyten

Bei *Barbula unguiculata* konnten bereits É. und ÉM. MARCHAL (1904/06) an Hand von Einsporkulturen zeigen, daß aus je einer Spore entweder ein rein weiblicher oder ein rein männlicher Gametophyt hervorgeht. Über deren Spaltungsverhältnis konnten É. und ÉM. MARCHAL jedoch auf Grund ihres kleinen Versuchsmaterials nichts aussagen. Aus unseren weit zahlreicheren Serien von Einsporkulturen geht nun hervor, daß weibliche und männliche Gametophyten immer in gleicher Anzahl entwickelt werden. Damit ist das bei Haplonten zu erwartende Spaltungsverhältnis von 1:1 realisiert. Auf Grund dieser Spaltung und der streng unisexuellen Entwicklung der Sporen ist die haplogenotypisch bestimmte Diözie bei *Barbula unguiculata* erwiesen.

Die Getrenntgeschlechtigkeit ist bei *Barbula unguiculata* nicht nur auf die Verteilung der Sexualorgane beschränkt, vielmehr erstreckt sich der Unterschied zwischen weiblichen und männlichen Gametophyten auch auf deren Gestalt. Es handelt sich dabei um einen Geschlechtsdimorphismus, wie er bei verschiedenen diözischen Laubmoosen gefunden wurde. Am deutlichsten ist dieses Phänomen bei einigen *Macromitirium*-Arten ausgeprägt. Bei ihnen konnte ERNST-SCHWARZENBACH (1939) durch ihre Untersuchungen und Messungen in allen Stadien der Haplophase Größen und Gestaltunterschiede zwischen weiblichen und männlichen Pflanzen aufweisen. Bei allen anderen in dieser Hinsicht untersuchten Laubmoosen, wie *Splachnum sphaericum* (SCHWEIZER 1923, BORNHAGEN 1930), *Leucobryum glaucum* (WOESLER 1935), *Buxbaumia aphylla* (DENING 1935/36) und *Bryum capillare* (HOFFMANN 1956), waren sekundäre Geschlechtsmerkmale lediglich bei den Moosstämmchen und seinen Anhangsorganen ausgebildet. Allen bisher bei Laubmoosen beobachteten Formen des Geschlechtsdimorphismus ist gemeinsam, daß der männliche Gametophyt in allen oder wenigstens in einem Teil seiner Organe schwächer entwickelt ist als der weibliche.

Die von WOESLER (1935) bei *Barbula unguiculata* durchgeführten Sporenmessungen sowie eigene Untersuchungen, die sich auch auf das Protonema erstreckten, lassen hinsichtlich der Größe und Farbe keine Differenzen zwischen den verschiedengeschlechtigen Sporen und Protonemen erkennen. Die Ausbildung sekundärer Geschlechtsmerkmale ist hier, wie in den meisten Fällen, nicht mit einer Heterosporie verbunden, sondern ist auf das Moosstämmchen beschränkt.

Kennzeichnend für den Geschlechtsdimorphismus ist auch bei *Barbula unguiculata*, die bereits von É. und Ém. Marchal (1906) beobachtete geringere Größenentwicklung der männlichen Pflanzen. Dafür ist nach unseren Messungen an den Blättern allein die niedrigere Anzahl ihrer Zellen verantwortlich.

Die Getrenntgeschlechtigkeit und der damit verbundene Geschlechtsdimorphismus legt es nahe, Geschlechtschromosomen mit einem X-Y-Mechanismus für dieses Phänomen verantwortlich zu machen. Da eigene zytologische Untersuchungen noch ausstehen, können hierfür nur die Beobachtungen von Heitz (1928), Jachimsky (1935) und Vaarama (1950) herangezogen werden. Jachimsky fand in der Meiosis von *Barbula unguiculata* ein sich von allen anderen unterscheidendes Bivalent mit heterochromatischen, besonders großen Chromosomen. Jachimsky nimmt an, daß es sich hierbei um die Geschlechtschromosomen handelt. Allerdings konnten die bei einem X-Y-Mechanismus geforderten Größen- oder Strukturunterschiede zwischen den beiden Partnern nicht festgestellt werden. Diese Befunde konnten neuerdings von Vaarama (1950) auch an seinem in Finnland gesammelten Material bestätigt werden.

II. Geschlechtsverteilung der diploiden Gametophyten

Die Geschlechtsvererbung haplodiözischer Laubmoose wurde erstmalig von É. und Ém. Marchall (1907) an Hand von apospor entstandenen bivalenten Rassen von *Bryum argenteum*, *Bryum caespititium* und *Mnium hornum* untersucht. Bei allen ihren *bivalens*-Rassen waren beide Geschlechtstendenzen ausgeprägt, d. h. alle Pflanzen waren gemischtgeschlechtig. Auch v. Wettstein (1924) fand bei seinen *bivalens*-Rassen von *Bryum caespititium* in den meisten Fällen beiderlei Sexualorgane ausgebildet. Durch seine Versuche konnte v. Wettstein weiterhin einige Aussagen über das Verhältnis der weiblichen und männlichen Tendenz in ihrer Stärke zueinander machen; er zeigte nämlich, daß die männlichen Anlagen über die weiblichen dominieren. Die Gemischtgeschlechtigkeit bei bivalenten Rassen haplodiözischer Moose konnte auch durch eigene Beobachtungen (Hoffmann 1956) an *Bryum capillare* bestätigt werden. Sehr viel weniger eindeutige Verhältnisse hinsichtlich der, durch die Regeneration induzierten, Zwittrigkeit liegen bei *bivalens*-Rassen von *Splachnum sphaericum* vor (Schweizer 1923). Hier sind vielfach neben gemischtgeschlechtigen, rein weibliche und rein männliche Kulturen vorhanden, die, wenn sie nicht monströs ausgebildet waren, auch in ihren sekundären Geschlechtsmerkmalen streng unisexuell waren. Bornhagen (1930), die ebenfalls diploide Gametophyten von *Splachnum sphaericum* hinsichtlich ihrer Geschlechtsdifferenzierung untersuchte, fand in ihrem kleineren Material ausschließlich den unisexuellen, weiblichen Typ verwirklicht. Eingeschlechtig weiblich in bezug auf die Entwicklung von Geschlechtsorganen waren auch die diploiden Regenerationsrasen des haplodiözischen *Splachnum vasculosum* (Arens 1939). Jedoch war hier die männliche Tendenz in der Gestalt der diploiden Perichätialblätter angedeutet. Ebenfalls unisexuelle, jedoch rein männliche, *bivalens*-Rassen beschreibt Moutschen (1954) für das haplodiözische *Eurhynchium Stokesii*. Die Versuche Moutschens, diese eingeschlechtige Differenzierung durch variieren der Kulturbedingungen abzuändern, schlugen fehl.

Aus der Zusammenstellung dieser Befunde geht die außerordentliche Mannigfaltigkeit, die bei der Geschlechtsdifferenzierung von bivalenten Rassen haplodiözischer Laubmoose festzustellen ist, hervor. Die Beobachtungen an unseren *bivalens*-Rassen von *Barbula unguiculata* fügen zu diesen an sich schon zahlreichen Ausbildungsformen noch eine weitere hinzu. Bei allen bisher bekannten Formen war entweder Gemischtgeschlechtigkeit, die sich allerdings sehr verschiedenartig manifestieren kann, oder Unisexualität in nur einem einzigen Geschlecht vorhanden. In unseren Regenerationskulturen von *Barbula unguiculata* wurden aber im Gegensatz dazu, sowohl diploide Regenerationsrasen mit

ausschließlich Archegonienständen als auch solche, die nur Antheridienstände hervorbrachten, entwickelt. Jedoch ist bei den archegonientragenden *bivalens*-Rassen, die 92% aller Regenerationskulturen mit Gametangienständen ausmachen, ein Hinweis auf Gemischtgeschlechtigkeit gegeben. Denn hier konnte auf Grund der Analyse der sekundären Geschlechtsmerkmale bei den Perichätialblättern, die für diese Organe bei männlichen Pflanzen charakteristische Struktur nachgewiesen werden. Die Bisexualität ist hier also bei dem Vorhandensein von ausschließlich weiblichen Sexualorganen, auf die Ausgestaltung der Perichätialblätter, die diese Archegonienstände umhüllen, beschränkt. Es handelt sich hierbei um die gleichen Verhältnisse, wie sie auch Arens (1939) bei seinen diploiden Kulturen von *Splachnum vasculosum* beobachtete.

Sehr viel schwieriger ist das, wenn auch geringe, Vorkommen der männlichen *bivalens*-Kulturen zu erklären. Diese besitzen in allen untersuchten Merkmalen die typisch männlichen Eigenschaften. Somit ist also keinerlei Anhaltspunkt für eine Zweigeschlechtigkeit gegeben. Eine Aufklärung dieser Phänomene wird aber vielleicht durch die cytologische Analyse der verschiedenen *bivalens*-Rassen von *Barbula unguiculata* möglich werden.

III. Mosaikbildungen von Blättern und Sexualorganen

Mischbildungen zwischen zwei funktionell verschiedenartigen Organen sind schon bei einigen Laubmoosen beobachtet worden. Erstmalig machte Springer (1935) auf solche, aus Blatt- und Archegonienanteilen zusammengesetzten Mosaikbildungen aufmerksam. Sie wurden bei der Nachkommenschaft aus Sporen apogamer, d. h. vegetativ entstandener, Sporogone bivalenter Rassen von *Phascum cuspidatum* gefunden. Springer nimmt an, daß die Meiosis in den apogamen Sporogonen gestört ist und infolgedessen Sporen entstehen, deren Chromosomenzahl vom normalen haploiden Satz abweicht. Aus solchen Sporen gehen dann die Rassen hervor, deren Gametophyten die beschriebenen Mosaikbildungen besitzen. Ganz ähnliche Bildungen, bei denen ebenfalls Blatt- und Archegonienbestandteile miteinander kombiniert waren, waren auch bei mehreren *bivalens*-Rassen von *Brym capillare* (Hoffmann 1956) zu beobachten. Auch in diesem Fall wurden die mehr oder weniger vollständig ausdifferenzierten Archegonien immer aus dem Rippengewebe heraus entwickelt. In den diploiden Kulturen von *Barbula unguiculata* entstehen zusätzlich zu diesen Mosaikbildungen mit Archegoniencharakter auch solche, an deren Aufbau Antheridien beteiligt sind. Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, daß Mischbildungen aus Blättern und Sexualorganen bisher nur bei Moosrassen, deren Chromosomenzahl nicht dem haploiden Satz entsprach, aufgetreten sind.

Bemerkenswert ist nun, daß in allen bekannten Fällen die Sexualorgane immer aus dem Rippengewebe heraus entwickelt werden. Bei der Umdetermination geben die an der Blattspitze liegenden Rippenzellen ihre spezifische Gestalt auf und bringen eine zweischneidige Scheitelzelle hervor. Aus dieser entstehen dann entweder Archegonien oder auf den männlichen *bivalens*-Pflanzen Antheridien, wobei jedoch die Gametangien nicht immer vollkommen ausdifferenziert sind.

Entscheidend für das Zustandekommen solcher Mosaikbildungen ist weiterhin der Zeitpunkt ihrer Entstehung. Bisher konnten solche Mischbildungen immer nur in unmittelbarer Nähe der Gametangienstände beobachtet werden. Daraus läßt

sich schließen, daß sie immer erst in den späten Entwicklungsstadien der Gametophyten angelegt werden. Das Moosstämmchen muß also erst eine gewisse „Blühreife" erreicht haben, damit der Umschlag von bereits differenzierten Blättern in Sexualorgane stattfinden kann. Man könnte dabei an einen Determinationsstoff denken, der während der Entwicklung des Gametophyten im Moosstämmchen angereichert wird und dann auch bei den bereits differenzierten Blättern die Bildung von Sexualorganen auslöst.

Zusammenfassung

1. Bei *Barbula unguiculata* (Hudson) Hedwig wurde an Hand von Einsporkulturen haplogenotypisch bestimmte Diözie nachgewiesen.

2. Die Moosstämmchen der haploiden Gametophyten von *Barbula unguiculata* zeigen einen ausgesprochenen Geschlechtsdimorphismus, der genauer untersucht wurde.

3. Durch Regeneration von Sporogonen wurden experimentell diploide Rassen hergestellt, deren Geschlechtsverteilung untersucht wurde. Dabei lassen sich drei Verteilungstypen unterscheiden:

a) *bivalens*-Kulturen, die nur Archegonien entwickelten.

b) *bivalens*-Kulturen mit ausschließlich Archegonienständen.

c) *bivalens*-Kulturen ohne Sexualorgane.

Literatur

Arens, P.: Die Geschlechterverteilung bei einigen *Splachnaceen*. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 486—494 (1937). — Bornhagen, H.: Geschlechtsverteilung und Geschlechtsdimorphismus bei *Splachnum ampullaceum* L. und *Splachnum sphaericum* (L. f.) Swartz. Beih. bot. Zbl. **1**, 46, 407—434 (1930). — Dening, K.: Untersuchungen über sexuellen Dimorphismus der Gametophyten bei heterothallischen Laubmoosen. Flora (Jena) **30**, 57—86 (1935/36). — Ernst-Schwarzenbach, M.: Zur Kenntnis des sexuellen Dimorphismus der Laubmoose. Arch. Klaus-Stiftg **14**, 361—474 (1939). — Heitz, E.: Das Heterochromatin der Moose. I. Jb. wiss. Bot. **69**, 762—818 (1928). — Hoffmann, A.: Untersuchungen über die Geschlechtsdifferenzierung bei haploiden und diploiden Gametophyten von *Bryum capillare* L. Z. Vererbungslehre **87**, 753—768 (1956). — Jachimsky, H.: Beitrag zur Kenntnis von Geschlechtschromosomen und Heterochromatin bei Moosen. Jb. wiss. Bot. **81**, 203—238 (1935). — Limpricht, K. G.: Die Laubmoose Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. In Rabenhorsts, Kryptogamen-Flora, Bd. IV, Abt. 2. 1895—1904. — Marchal, É. et Ém.: Recherches, experimentales sur la sexualité des spores chez les mousses dioiques. Mém. Acad. roy. Belg. Cl. Sci., Ser. II **1**, 50 S. (1904/06). — Aposporie et sexualité chez les mousses. I. Bull. Acad. roy. Belg., Cl. Sci. **7**, 763—789 (1907). — Mönkemeyer, W.: Erg.-Bd. IV zu Rabenhorsts Kryptogamen-Flora. 1927. — Moutschen, J.: Quelques considerations sur l'aposporie chez les mousses. VIII. Congr. internat. Bot., Sec. **16**, S. 114—121, 1954. — Schweizer, J.: Polyploidie und Geschlechtsverteilung bei *Splachnum sphaericum* (L. f.) Swartz. Flora (Jena), N. F. **116**, 1—72 (1923). — Springer, E.: Über apogame (vegetativ entstandene) Sporogone an der bivalenten Rasse des Laubmooses *Phascum cuspidatum*. Z. Vererbungslehre **69**, 249—262 (1935). — Vaarama, A.: Studies on chromosome numbers and certain meiotic features of several Finnish moss species. Bot. Not. (Lund) **1950**, 2, 239—256 (1950). Wettstein, F. v.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose. I. Z. Vererbungslehre **33**, 1—236 (1924). — Woesler, A.: Zur Zwergmännchenfrage bei *Leucobryum glaucum* Schpr. Planta (Berl.) **24**, 1—13 (1935).

Dr. Anita Hoffmann, Freiburg i. Br.,
Botanisches Institut der Universität, Schänzlestr. 9

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 388—406 (1957)

Aus der Mikrobiologischen Abteilung des Botanischen Instituts der Universität Köln

ÜBER DIE FEINSTRUKTUR DES GENOMS IM BEREICH EINES PAB LOCUS VON *NEUROSPORA CRASSA**

Von

ERNST FREESE**

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Juni 1957)

Zahlreiche neue Experimente haben die alte Frage nach der Natur der Gene ihrer Lösung wesentlich näher gebracht. Die Entdeckung der biochemischen Reaktionsketten und die Isolierung von einheitlichen Enzymen, zeigten im Zusammenhang mit genetischen Untersuchungen, daß es sinnvoll ist, ein Gen als diejenige genetische Einheit zu definieren, die zur Erzeugung eines spezifischen Enzyms, bzw. Proteins Anlaß gibt. — Diese Einheit ist aber keineswegs unteilbar. BENZER (1955) konnte bei Phagen nachweisen, daß innerhalb eines *r* (= *rapid*) Locus sehr viele verschiedene Mutationen vorkommen, die miteinander rekombinieren. Dasselbe haben inzwischen auch LEUPOLD (1955) und ROMAN (1956) für *Adenin*-Loci in Saccharomyces, und DE SERRES (1956) für einen *Adenin*-Locus in *Neurospora* gefunden. Das Auftreten einer solchen Rekombination ist allerdings so selten, daß sie nur bei Anwendung wirksamer selektiver Methoden nachgewiesen werden kann. Aus diesem Grunde wurden für höhere Organismen noch über keine derartigen Resultate berichtet, z. B. konnte GREEN (1956) sogar bei umfangreichen Untersuchungen an *Drosophila* keine solchen Rekombinanten entdecken.

Diese Untersuchungen bei Mikroorganismen haben auch gezeigt, daß es experimentell meist schwierig ist zu entscheiden, ob 2 Mutanten zu demselben Gen gehören, oder zu 2 verschiedenen sehr eng gekoppelten Genen. Um im folgenden die verwendeten Begriffe verstehen zu können, muß diese Schwierigkeit hier besonders erwähnt werden. Bringt man nämlich zwei an demselben Locus mutierte Genome als Heterocaryon oder Heterozygote in dieselbe Zelle, so wird sich die Zelle nunmehr entweder wie der Wildtyp verhalten, oder auch weiterhin die mutierte Eigenschaft zeigen, d. h. zwischen den beiden Genomen ist „crossfeeding" möglich oder nicht. — Können sie sich ergänzen (= crossfeeding), dann bedeutet dieser Befund, daß die beiden Mutationen zu verschiedenen Genen gehören. Vermögen sie es dagegen nicht, so ist es wahrscheinlich, daß die beiden Mutationen zu demselben Gen gehören, d. h., daß das nötige Enzym weder von dem einen noch von dem anderen Genom gebildet wird. Wenn aber dieser zweite Fall eintritt, besteht eventuell die Möglichkeit, daß die mit Hilfe des entsprechenden Wildtyp-Gens hergestellte Substanz entweder rasch zerfallen oder so fest gebunden bleiben kann, so daß sie nicht zur Weiterverarbeitung an das andere Genom gelangt (Positionspseudoallelismus, LEWIS 1951). Diese letztere Möglichkeit kann nur bei genauer Kenntnis jedes einzelnen Schrittes der biochemischen Reaktionskette ausgeschlossen werden.

* Diese Arbeit wurde unterstützt durch Stipendium und Sachbeihilfe der „Deutschen Forschungsgemeinschaft" und durch ein Stipendium des „Damon Runyon Memorial Funds for Cancer Research". Die experimentelle Arbeit wurde ermöglicht durch die Gastfreundlichkeit von Herrn Prof. J. STRAUB und die großzügige Unterstützung von Herrn Dr. C. BRESCH (Botanisches Institut Köln).

** Gegenwärtige Adresse: Dpt. Biophysics, Purdue University Lafayette/Indiana, USA.

Um die experimentellen Ergebnisse leichter beschreiben zu können, hat Benzer 1957 den Begriff des „Cistrons" eingeführt. Je zwei Mutationen desselben Locus gehören zu demselben Cistron, wenn sie innerhalb derselben Zelle auf zwei verschiedenen Genomen (Chromosomen) liegen, und die Zelle immer noch die mutierte Eigenschaft aufweist.

Wenn innerhalb eines Cistrons eine sehr große Zahl von verschiedenen und miteinander rekombinierenden Mutanten gefunden wird, so scheint es klar, daß zum mindesten größere Gruppen davon, wenn nicht alle, zu demselben Gen gehören müssen; denn wie aus der partiellen Kenntnis der biochemischen Reaktionsketten folgt, kann die Zahl der biochemischen Schritte, die ein genetischer Locus vermittelt, nicht sehr groß sein.

Bis hierher wurde eine vollkommene Analogie zwischen den Resultaten bei Phagen und bei Organismen mit sichtbaren Chromosomen und normaler Zellteilung gefunden. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war nun, solche Analogien auch für die weiteren bei den Phagen erhaltenen Befunde herauszuarbeiten.

Durch Zweifaktor-Kreuzungen konnte Benzer (1955) nicht allein zeigen, daß ein Cistron eine komplexe Struktur hat, sondern auch, daß diese Struktur linear ist. — Bei Phagen wurde eine solche lineare Struktur vermutet, da praktisch nur die Desoxyribonukleinsäure (DNS) des Phagen als genetisches Material in die Bakterienzelle eintritt (Hershey and Chase 1952), und nach Watson und Crick (1953) die DNS ein lineares Fadenmolekül ist. Wenn das genetische Material innerhalb eines Chromosoms ebenfalls die DNS ist, so sollte man erwarten, daß auch für andere Organismen allele Marken linear auf dem Genom angeordnet sind.

Tatsächlich konnte der Verfasser durch Zweifaktor-Kreuzungen bei Neurospora eine lineare Anordnung von drei allelen Histidin-Marken desselben Cistrons aufzeigen (Freese 1957). Eine solche Ordnung kann allerdings erst als sicher bewiesen betrachtet werden, wenn in Drei- oder Mehrfaktor-Kreuzungen die Häufigkeit der verschiedenen Rekombinantentypen eindeutig mit dieser Ordnung übereinstimmt.

Um eine solche Übereinstimmung nachzuweisen, wurden in dieser Arbeit Kreuzungen zwischen je 2 von 3 allelen p-Aminobenzoesäure = *pab*-Marken und zusätzlichen Außenmarken rechts und links von *pab* durchgeführt. Auf die Ordnung der zwei allelen Marken bezüglich der Außenmarken sollte man schließen können, wenn man nach den *pab*-unabhängigen Rekombinationen selektioniert, und unter diesen die Häufigkeit der auftretenden Außenmarkenkombinationen bestimmt. Werden solche Kreuzungen nun für alle drei möglichen Kombinationen zwischen je zwei der drei *pab*-Marken durchgeführt, so sollte damit auch weiterhin die Ordnung der drei allelen Marken untereinander festgelegt sein.

Bei dieser Überlegung wurde allerdings stillschweigend angenommen, daß die linearen Gene längsweise hintereinander aufgereiht in den meist stark spiralisierten Chromosomen sitzen[1]. Statt dessen könnte es auch sein, daß die Gene, oder unter Umständen sogar größere Stücke des Genoms, als Seitenketten quer zur Längsrichtung des Chromosoms eingebaut sind. Durch unsere eben beschriebenen Kreuzungen kann auch zwischen diesen beiden Möglichkeiten eindeutig unterschieden werden. So müßte beim Längseinbau für die *pab*-unab-

[1] Über die Spiralisation der Chromosomen s. z. B. bei Oehlkers und Eberle (1957).

hängigen Rekombinationen hauptsächlich die eine der beiden Rekombinantentypen von Außenmarken-Kombinationen vorkommen, beim Quereinbau aber im wesentlichen der eine der beiden Elterntypen von Außenmarken-Kombinationen (Abb. 1).

Experimentell ist die Lösung der eben geschilderten Probleme aber keineswegs einfach. Nur durch eine glückliche Wahl von genetischen Marken und eine ausreichend große Statistik, konnte die Ordnung der drei *pab*-Marken festgestellt werden. Die 4 Typen von Außenmarken-Kombinationen treten nämlich in der erwähnten Kreuzung so stark miteinander korreliert auf, in manchen Fällen sogar fast gleich häufig, daß die Resultate wesentlich von den klassischen Erwartungen statistisch unabhängiger Austausche (cross-overs) abweichen.

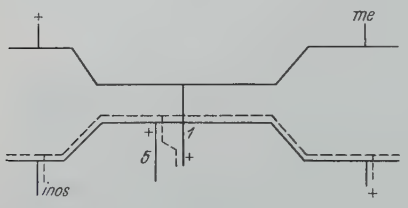

Abb. 1. Das Zustandekommen einer Rekombination innerhalb eines Gens, wenn die Gene als Seitenketten am Chromosom hängen würden. Zusammen mit der „Wildtyp"-Rekombinanten für die allelen Marken müßte ohne Korrelationseffekt der *inos*-Typ von Außenmarken auftreten. Wenn eine Region intimen Paarens angenommen wird, sollte im allgemeinen das crossing over links und rechts vom betrachteten Gen gleich häufig vorkommen und damit auch die beiden Rekombinanten-Typen von Außenmarken + + (*wild*) und *inos me*

Der erste Bericht über diesen „Korrelationseffekt" wurde von DEMEREC (1928) gegeben, in dem er das Phämonen als reverse Mutation beschreibt, welche mit dem crossing over in Heterozygoten von *Drosophila virilis* assoziiert ist. — In neuerer Zeit konnte M. B. MITCHELL (1955) dann zeigen, daß man die Erscheinung nicht als Anhäufung von vielen reziproken crossovers innerhalb kleiner Bereiche ansehen kann. In einer gut markierten Kreuzung von *Neurospora crassa* beobachtete sie, daß von 4 Asci, die eine Wildtyp-Segregante bezüglich der allelen Marken zeigte, keiner der Asci die reziproke Doppelmutante enthielt. Solche Befunde wurden für *Neurospora* auch von GILES (1955), ST. LAWRENCE (1956) und FREESE (1957), für *Aspergillus nidulans* von PRITCHARD (1955) und für Phagen von STREISINGER und FRANKLIN (1956) veröffentlicht.

Der Korrelationseffekt erschwert zwar die Festlegung von Markenreihenfolgen, erweitert aber dafür unsere Kenntnis vom crossing over. Der Effekt ist auf kleine Dimensionen beschränkt, denn für die Rekombination zwischen verschiedenen Loci wurde er bisher nicht beobachtet. Die Korrelation kommt offenbar dadurch zustande, daß die Chromosomen sich in kleinen Regionen sehr intim (bzw. effektiv) paaren, und dann an mehreren Stellen innerhalb einer solchen Region rekombinieren können. Da der Korrelationseffekt immer gefunden wurde, wenn man Kreuzungen mit allelen Marken durchführte, scheinen die Regionen intimen Paarens statistisch über das ganze Genom verteilt zu sein. — In der vorliegenden Arbeit werden experimentelle Befunde berichtet, die es ermöglichen, die Größenordnung der intimen Paarungsregion abzuschätzen.

Über die Rekombinationsvorgänge, die sich innerhalb einer solchen Paarungsregion abspielen, sind im wesentlichen zwei Annahmen denkbar, die Konversions- und die verallgemeinerte Crossing over-(= Switch-) Hypothese. Diese beiden Hypothesen wurden in einer vorangegangenen Arbeit (FREESE 1957) ausführlich behandelt. Da wir in der vorliegenden Arbeit auch Experimente unternahmen, die diese Theorien als bekannt voraussetzen, sollen die wesentlichen Grundgedanken sowohl der Konversions- als auch der Switch-Hypothese hier nochmals kurz beschrieben werden.

In der Konversionshypothese wird die (ungeprüfte) klassische Vorstellung aufrecht erhalten, daß die Rekombination zwischen entfernteren Loci durch exakt reziproke materielle Austausche zwischen je zwei homologen Chromatiden nach ihrer Verdoppelung erfolgt, und daß der Korrelationseffekt auf einem Zusatzmechanismus beruht, der nur für allele oder sehr eng gekoppelte Marken beobachtet werden kann. Dieser Zusatzeffekt soll im folgenden als Konversion bezeichnet werden, und stellt damit eine Verallgemeinerung des von WINKLER (1932) eingeführten Begriffes dar. Eine Konversion könnte entweder auf einer „gerichteten Mutation" (LINDEGREN 1955, MITCHELL 1956) beruhen, das ist eine Mutation (Rückmutation) in einem Chromatid unter dem Einfluß einer mutierten (nicht mutierten) Stelle eines homologen Chromatids, oder sie könnte durch den Einbau (= Transfer) eines an einem Chromosom extra verdoppelten Stückes in ein homologes Chromatid verursacht werden. — Der Korrelationseffekt wird dann dadurch erklärt, daß innerhalb einer Region intimen Paarens sowohl reziproke Austausche wie Konversionen stattfinden.

In der verallgemeinerten Crossover-(Switch)-Hypothese werden im Gegensatz zur Konversionshypothese nicht zwei verschiedene Mechanismen, sondern nur ein Mechanismus zur Erklärung der Vorgänge in kleinen Dimensionen benötigt. Es wird angenommen, daß sich die Chromosomen während der meiotischen Verdoppelung in einem solchen physiologischen Zustand befinden, daß sie sich innerhalb kleiner Regionen besonders intim paaren können, wenn zufällig homologe Bereiche aufeinandertreffen. Im Gegensatz zu der Vorstellung, daß sich die DNS verdoppelt, indem sich die beiden komplementären Ketten voneinander trennen, und jede ihr eigenes Komplement neu bildet, wird bei der Switch-Theorie angenommen, daß man bei der meiotischen Verdoppelung zwischen einem Eltern- und einem Tochter-Chromatid (zum mindesten in der Paarungsregion) unterscheiden kann. Diese Vorstellung scheint plausibel, weil man bei einer DNS-Verdoppelung durch Zweispaltung keinerlei Unreziprozität bzw. 3:1-Aufspaltung bekommen könnte, sondern zur Erklärung dieses Phänomens weitere Zusatzannahmen machen müßte.

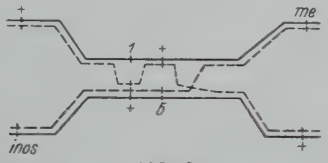

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 2. Nichtreziproke Entstehung einer „Wildtyp-Rekombination" zwischen zwei allelen Marken und gleichzeitiges Auftreten der „unnatürlichen" (selteneren) Kombination von Außenmarken, bei Annahme der Switch-Hypothese

Abb. 3. Dasselbe wie in Abb. 2, nur werden hier die Rekombinanten durch das Auftreten von heterogenotischen Stellen innerhalb einer Region intimen Paarens gebildet

In der Switch-Hypothese wird nun angenommen, daß sich innerhalb der intimen Paarungsregion die Tochterchromatiden teilweise an dem einen und teilweise an dem anderen Elternchromatid entlang bilden, und so von einer Informationsquelle zur anderen umschalten. Die Punkte, an denen diese Umschaltung vorkommen kann, sind kontinuierlich entlang des Genoms verteilt; die Wahrscheinlichkeit, daß ein Umschalten vorkommt, ist also für jeden Punkt innerhalb der intimen Paarungsregion ungefähr gleich groß. Der Korrelationseffekt wird nun dadurch erklärt, daß allele Marken oft innerhalb einer Paarungsregion liegen und, daß mehrere Schaltstellen innerhalb dieser Paarungsregion vorkommen. Die von MITCHELL (1955 und 1956) und von HAWTHORNE (1957) beobachtete unreziproke Produktion von Rekombinanten ist leicht zu verstehen, wenn wir annehmen, daß die Schaltstellen für die beiden sich neubildenden Chromatiden nicht immer an reziproken Punkten liegen, sondern statistisch über die Paarungsregion verteilt sind. Es kann also passieren, daß sich ein Tochterchromatid für ein kleines Stück an einem Elternchromatid entlang bildet, und das neu entstandene Stück sich bald von seiner Matrix ablöst. Danach kann sich dann das andere Tochterchromatid an derselben, inzwischen frei gewordenen Stelle entlang bilden. Diese unreziproke Erzeugung einer dreifachen Rekombinante ist in Abb. 2 aufgezeichnet. Man kann aus dieser Zeichnung weiterhin erkennen, daß die in der klassischen Genetik für weiter entfernte Marken beobachtete reziproke Erzeugung der Rekombinanten zustande kommt, indem

außerhalb der Paarungsregion jedes neue Chromatid sich an einem verschiedenen Elternchromatid entlang bilden muß, weil die andere Matrix schon besetzt ist, und keine weitere Replikation ermöglicht. Für weiter entfernte Marken sind nichtreziproke Vorgänge dann ausgeschlossen. Das crossing over wäre damit nicht auf einen Punkt beschränkt, sondern wäre das Ergebnis der Rekombinationsvorgänge innerhalb einer Region intimen Paarens.

Im Rahmen der Switch-Hypothese können alle uns bisher bekannten experimentellen Befunde erklärt werden, nur das Vorkommen von 4 Strang crossing-over ausgenommen. Kürzlich wurde aber von Taylor, Woods und Hughes (1957) überzeugend nachgewiesen, daß es in der Mitose Schwesterstrang-Austausch zwischen 2 Chromatiden gibt. Danach können wir uns vorstellen, daß das 4 Strang crossing over entsteht, indem sich an manchen Stellen switching, und an anderen Stellen aber Schwesterstrang-Austausch ereignet.

Innerhalb der Switch-Hypothese können wir nun noch verschiedene Annahmen machen, wie das Umschalten eines Tochterchromatids von einem zum anderen Elternchromatid zustande kommt. Einerseits könnte es sein, daß die neuen Chromatiden sich von den Chromosomenenden her bilden, und in den Gebieten intimen Paarens dann in der beschriebenen Weise umschalten, wobei sich das eine Chromatid etwas später bildet als das andere. Andererseits könnte auch sein, daß längs des Chromosoms zufällig verteilt, kleine neue Chromosomenstücke gebildet werden, die sich solange an ihrer Matrix entlang vergrößern, bis die gesamte Elternmatrix mit einem neuen Chromatid bedeckt ist. Eine Rekombination könnte dann dadurch zustande kommen, daß sich innerhalb einer intimen Paarungsregion zufällig überlappende Stücke miteinander verkleben, und so das genetische Resultat des Umschaltens liefern. Die in Abb. 2 als Punkte gezeichneten Umschaltestellen, würden dann in Wirklichkeit minutiöse heterogenotische Stellen sein, so daß die Feinstruktur von Abb. 2 wie Abb. 3 aussehen müßte. Eine solche Vorstellung wird durch das Auftreten von sog. „Heterozygoten" bei Phagen nahegelegt [Hershey and Chase (1951), Levinthal (1954), Trautner (1957)]. Allerdings ist es bei den Phagen im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Neurospora* möglich, daß während derselben Paarung nie oder nur selten reziproke Rekombinanten gebildet werden (Bresch 1955). In den Experimenten der vorliegenden Arbeit wurde nun auch bei *Neurospora* versucht, derartige „Heterogenoten" innerhalb einer Paarungsregion zu finden.

Material und Methode

Die in dieser Arbeit verwendeten verschiedenen biochemischen Mutanten von *Neurospora crassa* wurden mir freundlicherweise von Mrs. M. B Mitchell überlassen. Sie gehören sämtliche zur Kopplungsgruppe V (Barrat et al. 1954). Ihr Ursprung ist aus der Tabelle 1 ersichtlich. Die 3 *pab*(p-Aminobenzoesäure)-Mutanten *pab-1/2*, *pab-1/5*, *pab-1/7* sind praktisch isogen, da sie durch UV-Bestrahlung desselben Wildtyp-Eltern erhalten wurden. Da die *pab*-Marken nur als Tripelmutanten, mit Außenmarken rechts und links von *pab*, verwandt wurden, d. h. eine Anzahl von Kreuzungen mit denselben Stämmen durchgemacht haben, sind alle benutzten Stämme, zum mindesten für die Kopplungsgruppe V, weitgehend isogen.

Als vegetatives Medium wurde das von Beadle und Tatum (1945) angegebene Minimalmedium verwendet und für die Kreuzungen das Sexualmedium nach Westergaard und Mitchell (1947). Die für die verschiedenen Mutanten zum Medium benötigten biochemischen Zusätze, sind aus Tabelle 1 ersichtlich. Bei den Nährböden für die Mutanten *pab* (p-Aminobenzoesäure) und *me* (Methionin)

Tabelle 1. *Die Bezeichnung der biochemischen Mutanten, ihre Herkunft und die zu ihrem Wachstum benötigten Zusätze*

(Die *inos-t*-Mutante wächst in 25° C auf Minimalmedium, dagegen nur bei Inosit-Zusatz bei 35° C.)

Marke	Abgekürztes Symbol	Isolierungs-nummer	Hergestellt durch (Art der Bestrahlung)	Zusatz zum Minimalmedium je 100 ml (cm^3)
hist-1	*h*	C 91	UV	20 mg l-Histidin
inos-t	*i*	83201	Röntgen	0,4 mg i-Inosit
me-3	*m*	36104	UV	40 mg d,l-Methionin oder 20 mg d,l-Homocystein
asp	*a*	1A 7	UV	20 mg d,l-Asparagin
pab-1/1	*1*	1633	Röntgen	4 γ p-Aminobenzoesäure
pab-1/2	*2*	35307	UV	4 γ p-Aminobenzoesäure
pab-1/5	*5*	36111	UV	4 γ p-Aminobenzoesäure
pab-1/7	*7*	38113	UV	4 γ p-Aminobenzoesäure

war eine spezielle Sorgfalt nötig, denn aus nicht ganz klaren Gründen konnten die *pab*-Mutanten schon bei einer Zugabe von Methionin allein langsam weiterwachsen. Somit ist es also schwierig, die *pab*-Mutanten von der *me*-Mutante auf Minimalmedium + Methionin-Zusatz zu unterscheiden. Diese Schwierigkeit kann aber überwunden werden, wenn die *me*-Mutanten nicht mit Methionin, sondern Homocystein gefüttert werden, das in der biochemischen Reaktionskette einen Schritt vor der Methionin-Erzeugung liegt und somit eine Vorstufe des Methionins darstellt. Die *me*-Mutanten wachsen mit Homocystein zwar etwas langsamer, der Vorteil ist aber, daß unter diesen Bedingungen die *pab*-Mutanten fast überhaupt nicht mehr wachsen. In allen Fällen, in denen eine Unterscheidung zwischen *pab*- und *me*-Mutanten nötig war, verwendeten wir also stets zum Wachstum der *me*-Mutanten Homocystein statt Methionin. Dieser Unterschied zwischen Homocystein und Methionin hängt möglicherweise damit zusammen, daß *pab* zur Folsäureproduktion und damit zur Methylierung von Homocystein nötig ist.

Die am meisten Zeit raubende Arbeit bestand darin, die nötigen Doppel- und Tripel-Mutanten sowie die geeigneten Paarungstypen herzustellen. Für nicht zu eng liegende Loci wurden von einer Kreuzung stammende Sporen auf Minimalmedium plattiert, welches suboptimale Mengen der nötigen biochemischen Zusätze enthielt, denn die meisten Mutanten starben, wenn sie ihre benötigten Zusätze nicht in geringer Menge vorfanden. Die am wenigsten wachsenden Myzelien wurden isoliert und auf ihre biochemische Abhängigkeit hin geprüft. Für sehr eng gekoppelte Marken ist dieses Verfahren ziemlich langwierig. Zur Herstellung von Doppelmutanten, welche die *inos* (= Inosit)-Marke enthalten, konnte die spezielle Eigenschaft des Stammes *inos-t* benutzt werden, auf Minimalmedium bei 25° zu wachsen, dagegen nicht bei einer Temperatur von 35° C. Um die Tripelmutanten *hpm* (Histidin, p-Aminobenzoesäure, Methionin) zu bekommen, wurde ein „Einschachtelungstrick" angewandt, der eine partielle Selektion liefert. Es war nämlich relativ einfach, die Mutanten *hpa* (Histidin, p-Aminobenzoesäure, Asparagin) und *im* (Inosit, Methionin) herzustellen. Die aus der Kreuzung *hpa* × *im* stammenden Sporen wurden auf Minimalmedium + hist (Histidin) + pab (p-Aminobenzoesäure) + me (Methionin) plattiert und in 35° C gezogen. Unter diesen Bedingungen konnten dann beide Elterntypen nicht wachsen, die

hier groß auswachsenden Myzelien waren entweder *h*, *hm* oder *hpm*. Die Markenreihenfolge und Rekombinationsfrequenzen sind in Abb. 4 dargestellt.

Aus den Rekombinationsfrequenzen zwischen je 2 Marken folgt, daß in etwa 17 so isolierten groß auswachsenden Myzelien eine *hpm*-Mutante enthalten sein sollte. Das ist sehr viel günstiger als ohne Einschachtelung, wo eine *hpm*-Mutante unter 220 zu erwarten gewesen wäre. Derselbe Trick kann auch verwendet werden, um von 2 allelen Marken die Doppelmutante herzustellen, vorausgesetzt, daß die verwendeten Außenmarken sehr eng gekoppelt sind, wie z. B. in unserem Fall die *inos*- und *me*- zur *pab*-Marke.

Um Rekombinationsfrequenzen zu bestimmen, bzw. um bestimmte Rekombinantentypen zu isolieren, wurden die Sporen einer Kreuzung in Weichagar (Medium + 0,5% Difco-Agar) gebracht, der in einem Wasserbad bei 45° C gehalten wurde. Je 2 ml (cm^3) der Suspension wurde nach gutem Schütteln auf die benötigte Zahl von Agarplatten (Medium + 3% Difco-Agar und vorgetrocknet) pipettiert und durch Schütteln rasch gleichmäßig verteilt. Um bei einer großen Menge Platten die Zahl der Sporen je Platte zu bestimmen, wurde 0,1 ml der Suspension auf einen Objektträger gebracht und die Gesamtzahl der Sporen ausgezählt. Wenn die Prozentsätze von Rekombinanten groß waren, d. h. bei entfernten Marken, wurden in einem quadratischen Bereich der Platte die gekeimten, die nicht gekeimten und die groß auswachsenden Sporen auf einer solchen Anzahl von Platten ausgezählt, wie es nötig war, um eine gute Statistik zu bekommen. Bei Untersuchungen mit sehr engen Marken, z. B. bei Allelen wurden nur die groß auswachsenden Myzelien auf den ganzen Platten gezählt, und das Verhältnis von gekeimten zu nichtgekeimten Sporen auf 2 Platten festgestellt.

Sollten die groß auswachsenden Myzelien auf ihre biochemische Abhängigkeit geprüft werden, so wurden sie ganz oder auch nur ein Teil ihrer Hyphen unter dem Mikroskop in einem Semi-Dunkelfeld isoliert und zum Weiterwachsen in Schrägröhrchen übertragen. Die isolierten Myzelien wachsen manchmal nicht, besonders wenn sie die *inos*-Marke enthielten.

Der Test auf die biochemische Abhängigkeit der isolierten Neurosporae wurde in der üblichen Weise in kleinen Röhrchen mit flüssigem Medium vorgenommen (s. bei FREESE 1957). Im Gegensatz zu unserer vorangegangenen Arbeit wurde aber in der vorliegenden keine Sorbose zur Erzeugung von „colonial"-Wachstum benutzt.

Die experimentellen Resultate

1. Reihenfolge und Rekombinationsfrequenzen (= -häufigkeiten) für die verschiedenen biochemischen Mutanten

Zunächst mußte die genaue Reihenfolge der verschiedenen Mutanten auf dem Genom von *Neurospora* ermittelt werden. Die Aufeinanderfolge der Marken *hist*, *inos* und *pab* konnten wir aus der Arbeit von GILES (1955) entnehmen, diejenige von *me-3* und *asp* wurde, wie es allgemein üblich ist, mit Hilfe von Dreifaktor-Kreuzungen bestimmt. Die genaue Markenreihenfolge ist aus der Abb. 4 ersichtlich. In derselben Zeichnung können außerdem auch die Rekombinationsfrequenzen der verschiedenen Marken entnommen werden.

Die Rekombinationsfrequenzen zwischen je 2 verschiedenen biochemischen Marken wurden sowohl in Zweifaktor-Kreuzungen gemessen, als auch mit Hilfe von zusätzlichen Marken außerhalb oder zwischen den beiden jeweils betrachteten Marken. Wenn gekoppelte Marken (d. h. Inhomologien des Genoms) außerhalb angebracht wurden, lagen die Veränderungen der Rekombinationsfrequenzen im

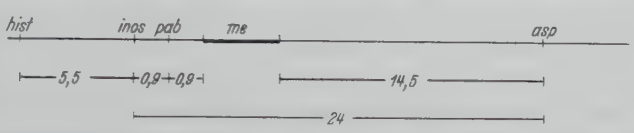

Abb. 4. Markenreihenfolge und Rekombinationsfrequenzen eines Gebietes der Kopplungsgruppe V von *Neurospora crassa*

Rahmen der üblichen Schwankungen von Zweifaktor-Kreuzungen. Waren Marken zwischen die beiden betrachteten Marken eingebaut, so wurde für die Rekombinationsfrequenz zwischen *hist* . . . *me* und zwischen *inos* . . . *me* (weiter und enger Abstand) zwar gefunden, daß sie sich durch den Zwischenbau von Marken immer verkleinert (Paarungseffekt oder kleine Deletion?), aber die Abweichung von den Resultaten der Zweifaktor-Kreuzungen war unwesentlich. Ein bemerkenswerter Effekt wurde allerdings für die Rekombinationsfrequenzen zwischen *inos* . . . *asp* immer dann beobachtet, wenn die *me*-Marke dazwischengebaut war, während der Einbau einer *pab*-Marke keinen Einfluß hatte. Diese Kreuzungen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Man beobachtet denselben Effekt schon beim Vergleich der Zweifaktor-Kreuzungen.

Tabelle 2. *Rekombinationsfrequenzen zwischen inos = i* und *asp = a in Abhängigkeit von dazwischenliegenden Mutanten pab-1/2 = p und me = m*
(*pa* ist z. B. die Doppelmutante zwischen *pab-1/2* und *asp*. Die beiden letzten Rekombinationsfrequenzen stehen in Klammer, weil sie wegen der geringen Keimung und der wenigen gezählten Sporen fragwürdig sind.)

Kreuzung	Keimung in Prozent	Groß auswachsende Pflanzen	Gekeimte Sporen	Rekombinationsfrequenz in Prozent
$i \times a$	90	370	3062	24
$i \times pa$	78	309	6060	20
$ip \times a$	97	465	4200	22
$i \times ma$	83	277	3814	14,5
$im \times a$	97	408	5040	16
$im \times ma$	93	742	14244	10,4
$ip \times ma$	57	130	1021	(13)
$ip \times hma$	62	110	2000	(11)

Der Abstand zwischen *inis* . . . *me* ist etwa 1,5%
Der Abstand zwischen *me* . . . *asp* ist etwa 14,5%
Der Abstand zwischen *inos* . . . *asp* ist etwa 24%

Offenbar stellt also die *me*-Mutante eine Inhomologie in der Größenordnung von etwa 8% Morganeinheiten dar. Da die Rekombinationsfrequenz beim Einbau der *me*-Mutante in beide Eltern nicht wieder ansteigt, sondern im Gegenteil aus unbekannten Gründen sogar noch kleiner wird (s. Tabelle 2), ist die *me*-Mutante offenbar eine größere Deletion.

2. Kreuzungen zwischen den pab-Mutanten und der me-Mutante

Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, ist der Korrelationseffekt auf sehr kleine Dimensionen beschränkt und deshalb nur für Kreuzungen zwischen

allelen Marken gefunden worden. Um festzustellen, ob der Effekt eventuell auch für nicht allele Marken auftritt, und um eine Abschätzung für die Ausdehnung einer Region intimen Paarens zu bekommen, wurden Kreuzungen zwischen dem *pab*- und dem *me*-Locus durchgeführt. Die Art der Kreuzungen mit den verschiedenen Außenmarken ist aus dem Schema in Abb. 5 ersichtlich. Diese Kreuzungen wurden mit allen 4 *pab*-Mutanten angesetzt, um für die späteren Kreuzungen dieser Mutanten untereinander sicher zu sein, daß sie sich alle gleichartig verhalten. Die reifen Sporen wurden auf Minimalmedium + Histidin + Inosit + Asparagin-Zusatz plattiert, d. h. es wurde für die *pab*- und *me*-unabhängigen Typen selektioniert. Nach etwa 17 Std in 25° C wurden die groß auswachsenden Pflänzchen oder ihre Hyphen in Schrägagarröhrchen geimpft. Die hieraus entstandenen Myzelien wurden dann auf ihre biochemischen Abhängig-

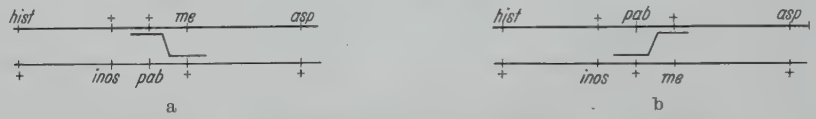

Abb. 5 a u. b. Markenanordnung für die *pab* × *me*-Kreuzungen

keiten geprüft. Die Ergebnisse aus diesen Kreuzungen sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Die *pab*- und *me*-unabhängigen Segreganten zeigen dieselben Häufigkeitsverhältnisse für die verschiedenen Außenmarken-Kombinationen, gleich welche der 4 *pab*-Marken verwandt wurde. Die 4 *pab*-Marken sind also gleichartige Mutanten desselben Locus, daher genügt es, weiterhin lediglich den summarischen Effekt aller dieser Kreuzungen zwischen *me* und den 4 *pab*-Marken zusammen zu betrachten. Die Summe aus den einzelnen Kreuzungen ist in Tabelle 3 in den Zeilen *hma* × *ip* bzw. *hpm* × *ia* eingetragen. Für einen ersten Überblick stehen in dieser Tabelle auch 2 Zeilen, in welchen wiederum der summarische Effekt aller Kreuzungen angegeben ist, in diesem Fall aber ohne Berücksichtigung des *hist*-Locus (in der Zeile „*hma* × *ip*, wenn *hist* nicht berücksichtigt" unserer Tabelle 3, und analog dort auch für *hpa* × *im*). Aus diesen Zeilen der Tabelle bzw. bei den Angaben unter „in Prozent der Gewachsenen" sieht man, daß zusätzlich zu der Rekombination zwischen *pab* und *me* eine Rekombination zwischen *inos* und *pab* häufiger auftritt, als es bei statistisch unabhängigen crossovers zu erwarten wäre.

Für die Kreuzung *hma* × *ip* erscheint der *inos*-Typ als *i* oder *ia* in 1,7 + 0,4 = 2,1 aller Fälle, das ist etwa 2mal soviel als erwartet wurde (statt 0,9%), und in der reziproken Kreuzung *hpa* × *im* erscheint der *wild* bzw. der *asp*-Typ in 5,3 + 1,3 = 6,6% aller Fälle, also etwa 7mal das Erwartete. Der Effekt in der Kreuzung *hma* × *ip* ist wahrscheinlich deshalb kleiner, weil Typen, welche die *inos*-Marke enthalten, öfters nach der Isolierung absterben. Wir beobachten also um die *pab*-Marke herum einen, wenn auch etwas schwachen Korrelationseffekt. Daß ein solcher Effekt um die *me*-Marke herum dagegen nicht auftritt (21% und 17% sind in der Größenordnung der erwarteten 15%) zeigt, daß der Korrelationseffekt sich nicht über die relativ große *me*-Deletion ausdehnen kann. Dasselbe Ergebnis erhalten wir auch, wenn wir die Kreuzungen noch einmal unter Berücksichtigung der *hist*-Marke betrachten. (Aus Tabelle 3, Zeile „*hma* × *ip*, alle *pab* zusammen",

und der entsprechenden Zeile für die reziproke Kreuzung geht dieses hervor). Die Häufigkeit mit der der Wildtyp in der Kreuzung *hma* × *ip*, bzw. der *ha*-Typ in der Kreuzung *hpa* × *im* auftreten, entspricht der Erwartung von unabhängigen crossovers in der *hist* . . . *inos*-Region. Der Korrelationseffekt bleibt also auf sehr kleine Dimensionen beschränkt.

Eine ganz grobe Abschätzung der mittleren Länge L einer Paarungsregion in der *pab* . . . *me*-Gegend können wir bekommen, wenn wir annehmen, daß die Zahl der Rekombinationsakte in einer Paarungsregion groß ist (hiervon werden die Ergebnisse nicht wesentlich abhängen!), und daß für jedes rekombinierende Genom im Mittel gleichhäufig eine gerade, wie eine ungerade Zahl solcher Akte vorkommt. Diese Annahme scheint vernünftig, weil bei sehr engen Marken die Rekombinanten-Typen von Außenmarken ungefähr gleich häufig wie die Parentaltypen auftreten. Wir nennen eine Paarungsregion ungerade, wenn mindestens eines der rekombinierenden Genome eine ungerade Zahl von Rekombinationsakten eingegangen ist, wir nennen sie dagegen gerade, wenn nur gerade Zahlen von Rekombinationsakten auftreten.

Zunächst müssen wir die Messung einer Entfernung x zwischen 2 Marken näher erklären. Für größere Markenabstände sind die an verschiedenen Stellen des Genoms auftretenden Rekombinationen (crossing overs) nahezu unkorreliert und die Rekombinationsfrequenzen sind daher näherungsweise additiv. Dann ist es sinnvoll, die Rekombinationsfrequenzen selbst als ein Maß für die Markenabstände zu benutzen (= Morganeinheiten). Für eng

Tabelle 3. *Ergebnisse der pab* × *me-Kreuzungen*
(Die summarische Rekombinationsfrequenz zwischen *pab* und *me* ist in den beiden reziproken Kreuzungen 0,88%. Die Abkürzungen bedeuten: *h* = *hist*, *i* = *inos*, *p* = *pab*, *m* = *me*, *a* = *asp. 1, 2 5, 7* steht für die 4 verschiedenen *pab*-Mutanten)

Kreuzung	Gekeimte Sporen	Groß ausgewachsene Pflanzen	Isoliert und gewachsen	*w*	*h*	*i*	*a*	*hi*	*ha*	*ia*	*hia*
hma × *i1*	30960	110	94	5	64	1	4	2	17		1
hma × *i2*	17300	227	125	10	99		1		15		
hma × *i5*	51200	142	96	3	72	2			19		
hma × *i7*	52070	193	159	8	103	3	4		40	1	
hma × *ip* alle *pab* zusammengefaßt	151530	672	474	26	338	6	9	2	91	1	1
in Prozent der Gewachsenen				5,5	71,2	1,3	1,9	0,4	19,2	0,2	0,2
hma × *ip* wenn *hist* nicht berücksichtigt				364		8	100			2	
in Prozent der Gewachsenen				76,7		1,7	21,3			0,4	
h1a × *im*	71760	341	244	1	1	44		2	15	171	10
h2a × *im*	67110	277	203	1	1	28	3	1	6	158	5
h5a × *im*	17200	68	43			8			2	31	2
h7a × *im*	53400	228	150	1	3	19	1		7	115	4
hpa × *im* alle *pab* zusammengefaßt	209470	914	640	3	5	99	4	3	30	475	21
in Prozent der Gewachsenen				0,5	0,8	15,5	0,6	0,5	4,7	74,2	3,3
hpa × *im* wenn *hist* nicht berücksichtigt				8		102	34			496	
in Prozent der Gewachsenen				1,3		15,9	5,3			77,5	

gekoppelte Marken, deren Abstände vergleichbar mit der mittleren Ausdehnung der Region intimen Paarens sind, können die Rekombinationsfrequenzen zwischen mehreren Marken wegen des Korrelationseffektes nicht mehr additiv sein. Um trotzdem ein additives Entfernungsmaß zu bekommen, postulieren wir, daß die Entfernung x zwischen 2 Marken gleich der Häufigkeit ist, mit der das Zentrum einer ungeraden Paarungsregion zwischen die beiden Marken fällt. Dieses ist das einzige lineare Entfernungsmaß, welches für größere Markenabstände gleich der gemessenen Rekombinationsfrequenz ist, und stellt damit eine Verallgemeinerung der Morganeinheiten dar.

Eine Rekombination zwischen 2 gekoppelten Marken kann nun auf zweierlei Weise zustande kommen. Einmal dadurch, daß eine ungerade Paarungsregion zwischen die Marken fällt oder sie überlappt, dies geschieht etwa mit der Häufigkeit $x + L/2$ (L ist dabei in demselben Maßstab wie die Entfernung gemessen). Zum anderen dadurch, daß eine gerade Paarungsregion auf eine der beiden Marken fällt. Die Häufigkeit ist davon abhängig, ob die Marken weiter auseinander oder enger beisammen als die mittlere Ausdehnung einer Paarungsregion liegen. Diese Häufigkeit hat die Größenordnung von L. Daraus geht hervor, daß das lineare Entfernungsmaß zwischen eng gekoppelten Marken nicht mehr gleich der experimentell gemessenen Rekombinationsfrequenz ist, sondern immer kleiner als diese. (Dieses trifft aber nicht zu, wenn die Mutationen Deletionen sind!)

Da eine Umrechnung von Rekombinationsfrequenzen auf Entfernungseinheiten eine sehr genaue Kenntnis der Rekombinationsvorgänge in kleinen Dimensionen verlangt, die wir bisher nicht besitzen, werden wir im folgenden in allen kritischen Fällen den Abstand zwischen 2 Marken in „Rekombinationseinheiten" angeben, d. h. einfach in dem Prozentsatz der beobachteten Rekombinanten. Dabei sind wir uns darüber im klaren, daß dieses Entfernungsmaß nicht linear ist.

Die Bestimmung der Größe L (= Länge der Region intimen Paarens) ist jetzt einfach. Die Häufigkeit mit der in der Kreuzung *hpa* × *im* (s. Abb. 5b) diejenigen Typen von Außenmarken auftreten, die durch je eine Rekombination rechts und links von *pab* entstanden sind, ist, wie schon erwähnt, etwa 7mal so groß als von unkorrelierten cross-overs erwartet worden wäre. Das zusätzliche Erscheinen dieser Typen kommt zustande, indem eine Paarungsregion die *pab*-Marke überlappt und zur Übertragung der Wildtyp-Marke Anlaß gibt. Die Häufigkeit, mit der dieser Fall auftritt, ist bei der gegebenen Definition von L ungefähr gleich L. Der Prozentsatz P dieser zusätzlichen Typen unter allen Wildtyp-Rekombinanten W bezüglich *pab . . . me* ist dann gleich L/W oder $L = P \times W = 0{,}057 \times 0{,}9\% = 0{,}05\%$ Entfernungs- bzw. Morgan-Einheiten.

Die tatsächlich auf die *pab . . . me*-Gegend fallenden Regionen intimer Paarung werden in ihrer Länge statistisch um einen Mittelwert verteilt sein, der ungefähr in dieser Größenordnung von 0,05% liegt.

3. Kreuzungen der verschiedenen pab-Mutanten miteinander

Für eine Analyse der Rekombination am *pab-1*-Locus, standen 4 allele und unabhängig voneinander isolierte *pab*-Mutanten zur Verfügung. Sie werden im folgenden kurz als *1*, *2*, *5* und *7* bezeichnet. Um festzustellen, ob der *pab/1*-Locus biochemisch in Untereinheiten aufgegliedert ist, wurden der Heterocaryon-Test angewandt. Zunächst sollte einmal geprüft werden, ob die *pab*-Mutanten überhaupt Heterocaryons zu bilden vermögen. Da die beiden Tripelmutanten *hpm* und *ipa* auf Minimalmedium + p-Aminobenzoesäure miteinander wachsen können, während jede für sich allein nicht wächst, hatten wir zunächst bewiesen, daß die *pab*-Mutanten tatsächlich Heterocaryen produzieren können. Wurden dagegen die Konidien der beiden Tripelmutanten (mit irgendwelchen Kombinationen für die beiden *pab*-Marken) zusammen auf Minimalmedium mit oder auch ohne suboptimalen Zusatz von p-Aminobenzoesäure gebracht, so konnten keiner-

lei Heterocaryen beobachtet werden. Zwischen den verschiedenen *pab*-Mutanten ist also in einem Heterocaryon kein cross-feeding möglich, sie gehören demnach zu demselben Cistron.

Wie wir weiterhin feststellten, wuchsen Heterocaryen zwischen irgendeiner der *pab*-Mutanten und der *hist*-Mutante sehr gut auf Minimalmedium, folglich muß auch die mit Hilfe des pab^+-Locus produzierte Substanz offenbar zu einem pab^--Kern hindiffundieren können. Wenn daher irgendwelche der *pab*-Marken nicht zu demselben Cistron, sondern doch zu verschiedenen Genen gehören sollten, müßte eine sehr leicht zerfallende oder nicht diffundierende biochemische Vorstufe (precursor) der p-Aminobenzoesäure existieren.

Die Kreuzungen der verschiedenen *pab*-Mutanten miteinander, wurden mit den aus Abb. 6 ersichtlichen Außenmarken angesetzt. Die reifen Sporen wurden auf Minimalmedium + Histidin- + Inosit- + Homocysten- + Asparaginzusatz plattiert und nach der Hitzekeimung etwa 24—28 Std in 25° C gehalten. Im allgemeinen keimten mindestens 90% aller Sporen. Die groß auswachsenden Mycelien bzw. ihre Hyphen wurden in Schrägagar (mit allen Zusätzen) geimpft, und die aufwachsenden Hyphen auf ihre biochemische Abhängigkeit geprüft. Das Resultat dieser Kreuzungen ist in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4. *Resultate der pab × pab-Kreuzungen*

(Der Elterntyp von Außenmarken *hm* ist in allen Kreuzungen häufiger als der andere Elterntyp *ia*. Das beruht wahrscheinlich auf der geringeren Lebensfähigkeit der die *inos* Marke enthaltenden Mutanten).

a) *Verteilung der Außenmarken ohne Berücksichtigung von hist und asp*

Die Rekombinationsfrequenz zwischen 1 und 5 ist in der Kreuzung hlm × i5a etwa 4mal so groß wie in h5m × ila. Die Perithecien der letzteren Kreuzung wuchsen auch aus unbekannten Gründen sehr viel schlechter. Für die Möglichkeit einer linearen Markenanordnung war dies hier ohne Belang.

Kreuzung	Gekeimt	Groß gewachsen	Isoliert und gewachsen	*w*	*im*	*i*	*m*	Häufigkeit der *pab*- unabhängigen Typen in Einheiten 10^{-4}	Dasselbe gemittelt über reziproke Kreuzungen
h1m × i1a	868000	0							
h2m × i5a	1363100	0							
h5m × i2a	312000	0							
h7m × i7a	371600	0							
h1m × i5a	1526600	293	203	5	100	28	70	1,9	1,2
h5m × i1a	1526800	83	71	36	6	11	18	0,54	
h1m × i7a	468600	337	221	6	93	47	75	7,2	5,9
h7m × i1a	554300	267	200	86	15	49	50	4,8	
h5m × i7a	575000	206	114	3	59	27	25	3,6	2,9
h7m × i5a	714100	162	140	63	3	32	42	2,3	

b) *Verteilung der Außenmarken unter Berücksichtigung von hist und asp*

Kreuzung	Isoliert und gewachsen	*w*	*h*	*i*	*m*	*a*	*hi*	*hm*	*ha*	*im*	*ia*	*ma*	*him*	*hia*	*hma*	*ima*
h1m × i5a	203			7				63	5	87	20		1	1	7	12
h5m × i1a	71	1	8	4	1			17	27	6	7					
h1m × i7a	221		1	12	1		3	62	5	81	32		2		12	10
h7m × i1a	200		19	9	2	4		42	63	11	36	2	3	4	4	1
h5m × i7a	114		2	8	1			23	1	56	19		1		1	2
h7m × i5a	140		8	4	2	1		33	54	3	25			3	7	

Die *pab*-Mutanten *2* und *5* ergaben keine *pab*-unabhängigen Rekombinanten miteinander. Das mag daran liegen, daß die beiden Marken zu eng gekoppelt sind, eine der Marken eine größere Mutation (Deletion) enthält, oder sie zufällig identische Mutationen darstellen. — Sowohl diese Kreuzungen als auch die Selbst-Kreuzungen zwischen 1×1 und 7×7 zeigen, daß die spontan auftretenden Mutationen vernachlässigbar selten sind. Die *pab*-Mutante *2* wurde nicht weiter untersucht.

Die Rekombinationsfrequenzen zwischen je 2 verschiedenen *pab*-Marken erlauben eine Ordnung der 3 *pab*-Marken (*pab*/*1*, *pab*/*5* und *pab*/*7*) bezüglich einander. Wie deutlich aus Abb. 7 ersichtlich ist, lautet die Ordnung der *pab*-Marken *1* . . *5* . . *7*.

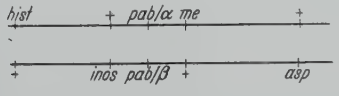

Abb. 6. Markenanordnung für die *pab* × *pab*-Kreuzungen

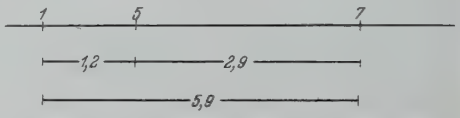

Abb. 7. Reihenfolge und Rekombinationsfrequenzen für die 3 *pab*-Marken

Bei den vorliegenden Experimenten konnte nicht nur eine Ordnung der allelen *pab*-Marken zueinander nachgewiesen werden, sondern auch eine Ordnung bezüglich der Außenmarken. In Tabelle 4b sind der Übersichtlichkeit halber die verschiedenen Rekombinanten ohne Berücksichtigung der weiter außen liegenden Marken *hist* und *asp* eingetragen. Von den beiden Rekombinanten-Typen von Außenmarken *w* und *im* ist immer einer sehr viel häufiger als der andere, und in reziproken Kreuzungen, in denen ja die beiden Marken miteinander vertauscht werden, kehrt sich das Verhältnis gerade um. Dieses ist den Erwartungen entsprechend, wenn die *pab*-Marken bezüglich der Außenmarken geordnet werden können. Man nimmt dazu an, daß der häufiger auftretende Rekombinanten-Typ von Außenmarken schon durch einen Rekombinationsakt zwischen den *pab*-Marken erzeugt wird, während für den selteneren Rekombinationstyp 3 solcher Akte nötig sind (s. Abb. 2). Eine ausführliche Begründung wurde bei FREESE (1957) gegeben. Die Ordnung der *pab*-Marken bezüglich der Außenmarken ist also diejenige von Abb. 8, sie stimmt mit der schon aus den Rekombinationsfrequenzen allein gefundenen überein.

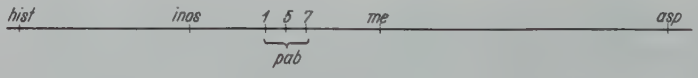

Abb. 8. Reihenfolge der *pab*- bezüglich der anderen Marken

Im Rahmen der klassischen Crossing over-Theorie würde auf Grund der in Abb. 4 angegebenen Rekombinationsfrequenzen erwartet werden, daß zusammen mit einem crossover zwischen 2 *pab*-Marken nur in $1{,}8 \times 10^{-2}$ aller Fälle ein Parentaltyp von Außenmarken auftritt (2fach crossover) und sogar nur in 8×10^{-5} aller Fälle der seltener vorkommende Rekombinantentyp von Außenmarken, welcher zu einem 3fach crossover gehören würde. Wir beobachten also eine sehr starke Korrelation zwischen 2 *pab*-Marken und 1 oder 2 Rekombina-

tionsakten in unmittelbarer Nachbarschaft davon. Die Tabelle 4a zeigt weiterhin, daß dieser Korrelationseffekt wirklich nur um die *pab*-Marken herum auftritt, und sich nicht über die Nachbarmarken erstreckt, denn das Auftreten weiterer Rekombinationen zwischen *hist* und *inos* bzw. *me* und *asp* entspricht etwa den Erwartungen des klassischen crossing-over. — Da weder alle 4 Typen von Außenmarken-Kombinationen gleich häufig vorkommen, noch der seltenere Rekombinantentyp ganz fortfällt (wie es bei entfernten Marken der Fall ist), müssen wir schließen, daß die mittlere Länge einer Region intimen Paarens ungefähr in der Größenordnung der Abstände zwischen den *pab*-Marken liegen muß. Das stimmt etwa mit der für die *pab* . . . *me*-Kreuzungen gegebenen Abschätzung von $L = 0{,}05\%$ überein.

Die hier vorliegenden Kreuzungen sind sehr sorgfältig geplant worden, um eventuelle Nebeneffekte, die unsere Versuchsergebnisse verfälschen könnten, sicher auszuschließen. Einerseits machen nämlich die sehr eng gekoppelten Marken *inos* und *me* jede Korrektion bezüglich unabhängiger cross overs unnötig, und heben den Korrelationseffekt deshalb ganz besonders stark hervor. Andererseits erlaubt die Verwendung von 2 zusätzlichen Außenmarken, wie unsere *hist*- und *asp*-Marken, die Aussage, daß folgende Ausnahmefälle praktisch nicht auftraten: Kontaminierungen, Pseudo-Wildtypen (die noch die *pab*-Marken enthalten) und Heterocaryen (sowohl zwischen 2 Elterntypen, als auch zwischen einer *pab*-unabhängigen Rekombinanten und einem Elterntyp, der noch die *pab*-Marke enthält). Müßten wir nämlich mit solchen Fällen rechnen, so sollte man oft Mycelien bekommen, die entweder von keinem einzigen oder nur einem der biochemischen Zusätze abhängig sind. Wir fanden aber statt dessen in 949 Fällen nur einen Wildtyp, der sich dann bei Rückkreuzung zu wild, als reiner Typ herausstellte. Auch die Häufigkeit der nur von einer biochemischen Substanz abhängigen Typen entspricht den Erwartungen. Es besteht also keinerlei Anlaß anzunehmen, daß irgendwelche Pseudo-Wildtypen oder Heterocaryen isoliert wurden.

Um festzustellen, ob die isolierten *Neurosporae* möglicherweise heterogenot waren, d. h. außer *pab*-unabhängigen auch *pab*-abhängige Kerne mit denselben Außenmarken enthielten, wurden 80 isolierte Mycelien mit dem Wildtyp rückgekreuzt. Von jeder dieser Kreuzungen wurden etwa 500—2000 Sporen auf Minimalmedium + Histidin + Inosit + Homocystein + Asparagin plattiert. Alle wuchsen ganz normal aus. Auch wenn suboptimaler Zusatz von p-Aminobenzoesäure gegeben wurde (um die Lebensfähigkeit etwa vorhandener *pab*-abhängiger Typen zu sichern), und die etwas schwächer wachsenden Pflänzchen auf Schrägagar transferiert, und dann später biochemisch geprüft wurden, konnte keine Abhängigkeit von p-Aminobenzoesäure entdeckt werden. Wenn also Heterogenoten vorhanden gewesen sind, dann müßten die *pab*-abhängigen Kerne entweder sehr selten gewesen, oder schon auf der selektiven Platte abgestorben sein. Ein solches Absterben ist aber ganz unwahrscheinlich, da sich solche Heterocaryen, zwischen *pab*- und anderen Mutanten bei unseren übrigen Untersuchungen sehr gut hielten.

Diskussion der Ergebnisse

Nachdem von Benzer (1955) für Phagen bewiesen war, daß allele Marken aus demselben Cistron linear angeordnet sind, konnten wir in einer früheren

Arbeit (Freese 1957) wahrscheinlich machen, daß dieselben Verhältnisse auch bei *Neurospora*, einem Chromosomen und normale Zellteilung besitzenden Organismus, vorliegen müssen.

Allerdings hatten wir die damaligen Versuche nur mit Zweifaktor-Kreuzungen durchgeführt. Um nun dieses Befunde weiter zu unterbauen, unternahmen wir nun nochmals solche Versuche mit Mehrfaktor-Kreuzungen, und vor allem mit sehr viel günstigeren Marken. Außerdem wurden die Untersuchungen in so großem Umfange durchgeführt, daß genügend Zahlenmaterial vorlag, die einzelnen Marken auch unter sich zu ordnen. Wir verwendeten 3 *pab*-Marken und die sehr eng gekoppelten Außenmarken *me* und *inos* rechts bzw. links von *pab*. Für die *pab*-unabhängigen Rekombinanten trat jeweils der eine Rekombinantentyp von Außenmarken viel häufiger auf als der andere, und in den reziproken Kreuzungen war das Verhältnis gerade umgekehrt. Aus diesen Befunden kann nun eindeutig auf die Ordnung der *pab*-Marken bezüglich der Außenmarken geschlossen werden. Weiterhin kann aus den Kreuzungen mit den verschiedenen *pab*-Marken auch die Reihenfolge der *pab*-Marken selbst festgestellt werden. Tatsächlich stimmte die somit erhaltene Reihenfolge mit der Ordnung der *pab*-Marken, die wir schon aus den Rekombinationsfrequenzen schließen konnten, sehr gut überein. Damit haben wir nun endgültig bewiesen, daß die 3 *pab*-Marken linear geordnet innerhalb desselben Cistrons liegen.

Diese Möglichkeit einer Ordnung von allelen Marken in *Neurospora* ist in Übereinstimmung mit den experimentellen Befunden von M. B. Mitchell (1955) und Giles (1955), die in Kreuzungen mit 2 Allelen und mit anderen Außenmarken fanden, daß einer der Rekombinanten-Typen von Außenmarken häufiger auftritt als der andere. Auch die Resultate von St. Lawrence (1956) mit 4 und von Freese (1957) mit 3 allelen Marken stehen nicht im Widerspruch zu einer Ordnung der Marken. Bei diesen Arbeiten waren die allelen Marken so eng gekoppelt, daß alle 4 Typen von Außenmarken-Kombinationen ungefähr mit derselben Häufigkeit beobachtet wurden, dabei ist die Tendenz zur Bevorzugung eines der beiden Rekombinanten-Typen ersichtlich, konnte aber der kleinen Zahlen wegen statistisch nicht gesichert werden.

Aus den erwähnten Arbeiten können noch weitere wichtige Befunde herausgeschält werden. So können wir aus ihnen auch entnehmen, wie die einzelnen Gene auf den Chromosomen angeordnet sein werden. Wir dürfen nämlich sagen, daß alle Resultate im Widerspruch zu der Annahme stehen, daß die Gene, oder vielleicht sogar größere Chromosomeneinheiten als Seitenketten an dem linearen Chromosom hängen. Wenn diese Anordnung zutreffen würde, müßten die Häufigkeitsverhältnisse der Außenmarken in den Kreuzungen zwischen allelen Marken ganz anders sein als tatsächlich gefunden wurde. Bei dieser Möglichkeit müßten nämlich beide Rekombinanten-Typen von Außenmarken ungefähr gleich häufig auftreten, während dagegen jeweils ein Elterntyp häufiger als der andere sein sollte (s. Abb. 1). In der reziproken Kreuzung, wo nur die beiden Allelen vertauscht sind, müßte sich das Verhältnis des Vorkommens der beiden Elterntypen gerade umkehren. Da aber solche Befunde aus keiner Arbeit hervorgehen, sprechen also die Experimente an *Neurospora* für eine lineare Einordnung des linearen Cistrons bzw. Gene, in das Chromosom und gegen ein Aufteten von Seitenketten. Wir stellen uns vor, daß es durchaus möglich ist, daß die genetische Information

eines Chromosoms in einem langen, spiralisierten DNS-Faden enthalten ist, der eventuell durch ein Proteingerüst gestützt wird.

Der für Kreuzungen mit allelen Marken bisher stets beobachtete Korrelationseffekt trat auch hier für die *pab*-Allelen auf, d. h. wir beobachteten eine starke Korrelation zwischen einem Rekombinationsakt zwischen 2 *pab*-Marken und 1 oder 2 Rekombinationen in direkter Nähe davon. Dieser Effekt tritt in der vorliegenden Arbeit besonders deutlich hervor: die Außenmarken *inos* und *me* sind sehr nahe am *pab*-Locus, und machen damit eine Korrektion der Resultate für unkorrelierte crossovers außerhalb des *pab*-Gebietes unnötig.

Die Größenordnung der Region intimen Paarens für die *pab* . . . *me*-Gegend kann sowohl aus den Kreuzungen zwischen den *pab*-Mutanten als auch aus Kreuzungen zwischen dem *pab*- und dem *me*-Locus auf etwa 0,05% Entfernungseinheiten geschätzt werden.

Da die experimentellen Resultate von *Neurospora* und Phagen so gut übereinstimmen, sei hier noch ein weiterer Vergleich zwischen den beiden Systemen angegeben. Für Phagen ist die Größe von zwei verschiedenen Cistrons ziemlich genau bekannt. Das A-Cistron von Benzer (1955) hat die Ausdehnung von etwa 5,5% und das B-Cistron von etwa 3,8% Rekombinationseinheiten. Da ein T_4-Phage etwa 2×10^5 Nukleotidenpaare DNS enthält, und das gesamte Genom etwa 200% Rekombinationseinheiten lang ist (Benzer 1957), entfallen auf das A-Cistron etwa $5{,}5 \times 10^3$ und auf das B-Cistron etwa $3{,}8 \times 10^3$ Nukleotidenpaare. Diese Größenordnung für ein Cistron soll nun mit entsprechenden Daten für *Neurospora* verglichen werden.

Der DNS-Gehalt eines *Neurospora*-Kernes ist, zumindest dem Verfasser, nicht bekannt. Für eine grobe Abschätzung möchten wir aber annehmen, daß er ungefähr gleich demjenigen von *Aspergillus* ist und damit etwa 4×10^7 Nukleotidenpaare beträgt (Heagy and Roper 1952, korregiert durch Pontecorvo und Roper 1956). Außerdem nehmen wir für *Neurospora* mit seinen 7 Chromosomen (McClintock 1945) und 7 Koppelungsgruppen (Barrat et al. 1954) an, daß die betrachtete Kopplungsgruppe V ungefähr den 7. Teil der DNS von allen Kopplungsgruppen zusammen enthält, und daß diese Kopplungsgruppe etwa 100% Morganeinheiten lang ist. Nun können wir schließen, daß unser *pab*-Cistron, in welchem wir Markenabstände zwischen 0,024% und 0,128% Rekombinationseinheiten beobachten, eine Ausdehnung von mindestens $\frac{0{,}128}{100} \times \frac{1}{7} \times 4 \times 10^7 = 7{,}3 \times 10^3$ Nukleotidenpaaren hat.

Diese Abschätzung ist natürlich sehr grob, aber sie zeigt, daß ein Cistron in *Neurospora* anscheinend ungefähr dieselbe Größenordnung von DNS-Einheiten hat wie die Cistrons von Phagen. Außerdem wird damit offenbar, daß eine Region intimen Paarens und damit Rekombinationen in *Neurospora* ungefähr 100mal seltener auftreten als bei den T_4-Phagen.

Interessant ist auch ein Vergleich zwischen der Größenordnung der Region intimen Paarens in *Neurospora* und der „Heterozygoten-Überlappungsregion" bei Phagen, da der bei Phagen beobachtete Korrelationseffekt wahrscheinlich innerhalb dieser Region stattfindet. Die Größe der Überlappungsregion wird von Levinthal (1954) auf ungefähr 10% Rekombinationseinheiten bei T_4-Phagen geschätzt, das entspricht etwa 10^4 Nukleotidenpaaren.

Unserer Abschätzung für die Region intimen Paarens bei unseren *Neurospora*-Untersuchungen mit 0,05% Entfernungseinheiten entspricht eine DNS-Menge von 3×10^3 Nukleotidenpaaren. Dieselbe Größenordnung würde man auch aus den *Neurospora*-Kreuzungen von Giles (1955) erwarten, während die Resultate von M. B. Mitchell (1955) zu ihrer Erklärung eine etwa 5—10mal größere Ausdehnung der Paarungsregion verlangen. Die gleiche Größenordnung, der Paarungsregion in DNS-Einheiten macht es nun wahrscheinlich, daß auch das Phänomen des intimen Paarens bei so sehr verschiedenen Systemen wie Phagen und *Neurospora*, in analoger Weise zustande kommt.

Der einzige Punkt, in dem die Ergebnisse für Neurospora und Phagen nicht übereinstimmen, ist die Erzeugung der Heterogenoten (bei Phagen „Heterozygoten" genannt). In *Neurospora* konnten keinerlei Heterogenoten gefunden werden. Das mag daran liegen, daß sie aus verschiedenen Gründen experimentell schwer nachweisbar sind. Es kann aber auch sein, daß die von Levinthal (1954) entwickelte Vorstellung für die Erzeugung von Phagenrekombinanten richtig ist, nach der alle solchen Rekombinanten in unreziproker Weise durch das Zusammenhaften von teilweise verdoppelten Phagengenomen gebildet werden. Die Haftregion ist in seinem Modell gleich der Heterozygotenregion. Anscheinend sind die Resultate der verschiedenen Phagenkreuzungen alle in Übereinstimmung mit diesem Modell. — Eine solche Bildung von Rekombinanten bei Phagen wäre zweifellos verschieden von derjenigen bei *Neurospora*, denn durch Ascosporenanalyse ist für *Neurospora* eindeutig gesichert, daß alle Rekombinanten zwischen nicht zu eng gekoppelten Marken reziprok auftreten.

Eine Entscheidung zwischen der Konversions- und der verallgemeinerten Crossing over (Switch)-Hypothese kann bisher noch nicht gefällt werden. Für die Switch-Hypothese spricht allerdings die einfache Erklärungsmöglichkeit des Rekombinationsmechanismus. Andererseits könnte man meinen, daß die Ergebnisse von Taylor, Woods und Hughes (1957) für die Konversionshypothese sprechen. Diese Beobachtungen zeigen nämlich, daß zum mindesten in der Mitose regelrechte Brüche und Vereinigungen von 2 Schwesterchromatiden vorkommen (ob während oder nach der Verdoppelung ist noch unklar). Ähnliche Brüche könnte man sich dann auch zwischen zufällig gepaarten homologen Chromosomen bei der Meiose vorstellen. — Aus denselben Beobachtungen folgt aber auch, daß ein Chromosom sich während der mitotischen Interphase verdoppelt, indem es sich längsweise halbiert und durch Einbau neuer Nukleotiden wieder ein „ganzes" Chromosom bildet. Dieser Befund entspricht der Vorstellung von Watson und Crick (1953) über die Verdoppelung der DNS, bedeutet aber noch keinen Beweis für diese Vorstellung. Bei einer solchen Verdoppelung der DNS durch Zweiteilung ist es aber schwierig, das Zustandekommen einer unreziproken Rekombination bzw. 3:1-Segregation zu verstehen. Es bleibt also eine offene Frage, ob diese Unreziprozität durch Abweichungen von der normalen DNS-Verdoppelung in kleinsten Dimensionen zustande kommt, oder ob sich hier ein wesentlicher Unterschied der DNS-Verdoppelung zwischen der Mitose und der Meiose offenbart.

Summary

In crosses involving three allelic *pab* markers of the same cistron, the recombination frequencies between any two of the markers were such, that a consistent

order of the three markers could be established. In these crosses two closely linked markers (0,9% distance, on each side) were also present. The segregation of the *pab* independent types showed, with respect to the outside markers, a frequent appearance of all four types of outside marker combinations, which in the crossing-over theory would belong to one crossover between the *pab* markers and 0, 1, or 2 crossovers in the adjacent regions. This deviation from ordinary crossingover expectations, called correlation effect, is confined to very small dimensions of the genome. In the present case to regions of about 0,05% map units.-Inspite of this effect, which sometimes nearly equals out the four types of outside marker combinations, the two recombinant types were, in all present crosses, significantly different, such that the *pab* markers could be ordered with respect to the outside markers. This ordering is in agreement with that established independently from recombination frequencies. Thus the frequencies of the different types of outside marker combinations are in agreement with the assumption, that the linear genes are built lengthwise into the chromosomal thread, and in disagreement with the assumption that genes or even larger chromosomal parts are sidechains of the chromosome.

For this work a subdividing technique has been used by which it was relatively easy to obtain the double mutants between close markers. The same technique can also be applied for the partial selection of double mutants of allelic markers, provided that relatively close markers are available. In determining the linkage relationships it has been found, that me-3 seems to involve a fairly large deletion.

Literatur

Barrat, R. W., D. Newmeyer, D. D. Perkins and L. Garnjobst: Map construction in *Neurospora crassa*. Adv. Genet. **6**, 1 (1954). — Beadle, G. W., and E. L. Tatum: Methods of producing and detecting mutations concerned with nutritional requirements. Amer. J. Bot. **32**, 678 (1945). — Benzer, S.: The finestructure of a genetic region in bacteriophage. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **41**, 344 (1955). — The elementary units of heredity. In: The Chemical Basis of Heredity. Baltimore 1957. — Bresch, C.: Zum Paarungsmechanismus von Bakteriophagen. Z. Naturforsch. **10**b, 545 (1955). — Demerec, M.: Mutable characters of *Drosophila virilis*. Genetics **13**, 359 (1928). — Freese, E.: The correlation effect for a histidine locus of *Neurospora crassa*. Genetics (im Druck). — Giles, N. H.: Forward and back Mutation at specific loci in *Neurospora*. Brookhaven Symp. Biol. **8**, 103 (1955). — Green, M. M.: A further analysis of the forked locus in *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **42**, 73 (1956). — Hawthorne, D.: Persönliche Mitteilung. — Heagy, F. C., and J. A. Roper: Desoxyribonucleic acid content of haploid and diploid *Aspergillus* conidia. Nature (Lond.) **170**, 713 (1952). — Hershey, A. D., and M. Chase: Genetic recombination and heterozygosis in bacteriophage. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **14**, 471 (1951). — Independent functions of viral protein and Nucleic acid in growth of bacteriophage. J. Gen. Physiol. **36**, 39 (1952). — Leupold, U.: Versuche zur genetischen Klassifizierung adeninabhängiger Mutanten von *Schizosaccharomyces pombe*. Arch. Klaus-Stiftg **30**, 506 (1955). — Levinthal, C.: Recombination in phage T_2: Its relationship to heterozygosis and growth. Genetics **39**, 169 (1954). — Lewis, E. B.: Pseudoallelism and gene evolution. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **16**, 159 (1951). — Lindegreen, C. C.: Gene conversion in *Saccharomyces*. Genetics **51**, 625 (1953). — Non mendelian segregation in a single tetrad of *Saccharomyces* ascribed to gene conversion. Science (Lancaster, Pa.) **121**, 605 (1955). — McClintock, B.: *Neurospora*. I. Preliminary observations of the chromosomes of *Neurospora crassa*. Amer. J. Bot. **32**, 671 (1945). — Mitchell, M. B.: Aberrant recombination of pyridoxin mutants of *Neurospora*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **41**, 215 (1955). — C. r. Trav. Labor. Carlsberg, Ser. Physiol. **26**, 285 (1956). — Oehlkers, F., u. P. Eberle: Spiralen und Chromomeren in der Meiosis von *Bellevalia romana*. Chromosoma **8**, 351 (1957). —

Pontecorvo, G., and J. A. Roper: Resolving power of genetic analysis. Nature (Lond.) **178**, 83 (1956). — Pritchard, R. H.: The linear arrangement of a series of alleles of *Aspergillus nidulans*. Heredity (Lond.) **9**, 343 (1955). — Roman, H.: Studies of gene mutation in *Saccharomyces*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **21** (1956). — Serres, F. J. de: Studies with purple adenine mutants in *Neurospora crassa*. I. Structural and functional complexity in the ad-3 region. Genetics **41**, 668 (1956). — St. Lawrence, P.: The *q*-Locus of *Neurospora crassa*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **42**, 189 (1956). — Streisinger, G., and N. C. Franklin: Mutation and recombination at the host range genetic region of phage T_2. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **21** (1956). — Taylor, J. H., P. S. Woods and W. L. Hughes: The organisation and duplication of chromosomes by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **43**, 122 (1957). — Trautner, T.: Diss. Göttingen 1957. — Watson, J. D., and F. H. C. Crick: A structure for desoxyribose nucleic acid. Nature (Lond.) **171**, 737 (1953). — Westergaard, M., and H. K. Mitchell: *Neurospora*. V. A synthetic medium favoring sexual reproduction. Amer. J. Bot. **34**, 573 (1947). — Winkler, H.: Konversions-Theorie und Austausch-Theorie. Biol. Zbl. **52**, 163 (1932).

Dr. Ernst Freese, Purdue University Dpt. Biophysics, Lafayette/Ind. USA

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 407—426 (1957)

Aus dem Max-Planck-Institut für Biologie, Abt. Melchers, Tübingen

DIE ABHÄNGIGKEIT DES AUFTRETENS NEUER VIRUSSTÄMME VON DER KULTURTEMPERATUR DER WIRTSPFLANZEN*

Von

KARL-WOLFGANG MUNDRY

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. April 1957)

Einleitung

Wenn man Impfmaterial von phytopathogenen Viren so stark verdünnt, daß mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, daß die Virusvermehrung auf Infektion mit einem einzelnen Viruspartikel zurückgeht,

Abb. 1. Mutation von einem Grünstamm des TMV zu Gelbstämmen (oberer Teil der Pflanze aus Abb. 2; *vulgare* auf „Samsun"-Tabak): an den Orten der Manifestation der Gelbstämme treten helle, kleine, meist gelbliche Flecken auf (sog. „yellow spots"). Das Ausgangsmaterial bleibt den Mutanten überlegen, die Mutanten bleiben daher auf scharf abgesetzte Flecken begrenzt

entstehen dennoch immer wieder während der Vermehrung des Virus im Pflanzengewebe neue Stämme (JENSEN 1933, 1936, 1937; NORVAL 1938). Aus methodischen Gründen hat bei diesen Untersuchungen ein Typ vom normalen Tabakmosaikvirus (TMV) abweichender Stämme eine besondere Rolle gespielt und zwar solche Stämme, die das Chlorophyll der Wirtspflanzen stärker zerstören als es das gewöhnliche TMV tut. Auch innerhalb des Symptombildes des gewöhnlichen TMV fallen diese Stämme durch mehr oder weniger helle, scharf abgegrenzte „gelbe Flecken" auf (Abb. 1). Durch die Untersuchungen

* Über diese Versuche wurde zum Teil schon vorläufig berichtet (MELCHERS und MUNDRY 1953). Sie sind ein Teil der in den Jahren 1951—1954 angefertigten Dissertation (MUNDRY 1954).

von McKINNEY (1935, 1937) und MELCHERS (in FRIEDRICH-FREKSA, MELCHERS und SCHRAMM 1946) ist bekannt, daß die Häufigkeit des Auftretens solcher gelber Flecken nach Infektion der Pflanzen mit gewöhnlichem TMV mit der Kulturtemperatur zunimmt. MELCHERS hat aber darauf hingewiesen, daß es leichtfertig wäre, aus diesen Befunden ohne weiteres auf eine Abhängigkeit der Mutationsrate von der Temperatur, bei der die Wirtspflanzen kultiviert wurden, zu schließen. Es muß durchaus damit gerechnet werden, daß die durch verschiedene Temperatur bedingten, veränderten Verhältnisse im Gewebe der Wirtspflanzen nur die Vermehrungsbedingungen für verschiedene Stämme in verschiedener Weise beeinflussen und daß der Effekt auch bei unveränderter Mutationsrate beobachtet werden könnte und dann als Ergebnis der Selektion gedeutet werden muß. So konnte z. B. WITTMANN (1957) in seinen Untersuchungen über die Mutabilität von Bakteriophagen nach sicherem Ausschluß jeglichen Selektionsgeschehens keinen mutagenen Temperatureffekt nachweisen.

Die im folgenden beschriebenen Versuche bringen Beiträge zur kritischen Diskussion dieser Frage.

Methodisches

Mit Rücksicht auf die etwas schwierige Entscheidung zwischen selektiv und mutagen bedingter Erhöhung der Gelbfleckenhäufigkeit war möglichst weitgehende Standardisierung der Versuchsbedingungen geboten. Diese Standardisierung umfaßt Kontrolle der Außenbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit, Beleuchtung) und der Abweichung der Blatt-Temperatur von der der umgebenden Luft unter verschiedenen Klimabedingungen, Ernährung der Pflanzen, Reinheit des Infektionsmaterials und Ausarbeitung sowie Erprobung einer Methode zur Bestimmung der Viruskonzentration. Die Bedeutung dieser Vorarbeiten für eine kritische Wertung der Versuche rechtfertigt ihre ausführliche Erläuterung.

Tabelle 1. *Differenz der Blatt-Temperatur (kursiv) gegenüber der der umgebenden Luft bei verschiedenen Klimabedingungen*

Licht		Dunkelheit	
Feuchtigkeit		Feuchtigkeit	
niedrig	hoch	niedrig	hoch
14,0° 53% *+1,3°*	14,3° 78% *+1,6°*	14,3° 79% *±0°*	13,3° 60% *±0°*
	20,0° 83% *+0,2°*	22,0° 78% *—1,0°*	
38,0° 62% *+0,4°*	37,5° 82% *+0,1°*	37,5° 84% *—1,5°*	

a) Die Klimaanlage. Neun einzelne, getrennt voneinander arbeitende Klimaaggregate versorgen je einen Klimaschrank von 1 m² Grundfläche und 1,5 m Höhe bei einer (veränderbaren) Windgeschwindigkeit von < 0,5 m/sec über Ventilatoren und Staubfilter mit Luft. Die Konstanz der Temperatur beträgt ± 0,5° C, die der relativen Feuchtigkeit ± 2%. Die Anlage nimmt kontinuierlich Frischluft auf. Sechs Schränke sind beleuchtbar, in unserem Fall wurden 20 OSRAM HNG-Leuchtstoffröhren à 40 Watt (Länge 1 m) je Kammer verwendet[1]. Die Beleuchtungsstärke betrug in Höhe der Sproß-Spitzen etwa 8000 Lux. Die Pflanzen stehen auf Eisenrosten, deren Höhe dem Wachstum der Pflanzen entsprechend

[1] Der OSRAM GmbH sei für großzügige Unterstützungen gedankt.

nachgestellt werden kann. Dadurch bleiben die Sproß-Spitzen stets in gleicher Entfernung von der Lichtquelle. Temperatur und Feuchtigkeit werden automatisch registriert. Alarmeinrichtungen schützen vor unbemerktem Ausfall in der Energieversorgung. Die Anlage ist für Temperaturbereiche von — 5° C bis + 40° C und relative Feuchtigkeiten von 65–98% verwendbar.

Abb. 2. *Nicotiana tabacum var.* Samsun, infiziert mit dem Grünstamm *vulgare* des TMV, in Wasserkultur

b) Messungen der Blatt-Temperatur. Die Temperatur eines Blattes muß keineswegs identisch sein mit der der umgebenden Luft. Je nach den Klimabedingungen kann die durch Strahlungsabsorption bedingte Erwärmung oder die transpirationsbedingte Abkühlung überwiegen. Da für unsere Versuche die Temperatur des Blattgewebes und nicht die der Luft entscheidend ist, wurde die Differenz zwischen der Temperatur des Blattes und der der umgebenden Luft unter verschiedenen Klimabedingungen bestimmt. Die Messungen wurden mit Kupfer-Konstantan-Thermonadeln und Spiegelgalvanometer durchgeführt (Ergebnisse Tabelle 1). Die beobachtete Erwärmung beleuchteter Blätter bei niedrigen Lufttemperaturen brauchte in den späteren Versuchen nicht besonders berücksichtigt zu werden, weil die

Registriergeräte der Anlage denselben Effekt zeigten. Somit stimmte die registrierte Temperatur zwar nicht genau mit der der Luft, dafür aber mit der viel wesentlicheren innerhalb der beleuchteten Blätter überein.

c) Wasserkultur der Pflanzen. Einheitliche und reproduzierbare Ernährung der Pflanzen erfolgte durch Wasserkultur in lichtdicht gestrichenen Gefäßen aus Jenaer Geräteglas 20 von 1 Liter Inhalt. Zum Schutz vor Erwärmung durch auffallende Strahlung erhielten die Gefäße einen Überzug aus säurefestem weißen Lack. Als Verschluß dienten paraffinierte, lichtdicht schließende Deckel aus Holzfaserplatten (Abb. 2). Glasklammern und Federzüge halten Deckel, Kulturgefäß und Filzuntersatz zusammen. Holzstäbe, die in die Glasklammern eingesteckt werden, geben den Sprossen den notwendigen Halt. Die Kulturgefäße werden in verdünnter Salzsäure (etwa 3 normal), die Deckel in siedendem Paraffin, alles übrige im Autoklaven sterilisiert. — Das Rezept für die Nährlösung wurde in Vorversuchen empirisch ermittelt (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Nährlösungsrezept für die Wasserkultur TMV-infizierten „Samsun"-Tabaks*
(Mengen in Gramm je Liter der gebrauchsfertigen Lösung)

Calciumnitrat	0,82	Die Lösung hatte einen p_H-Wert von 5,2. Anstelle von Fe-citrat wurde später DUGGAR-Lösung verwendet: Stammlösung 1:100 verdünnt, davon 5 cm³ je Liter fertiger Nährlösung
Kaliumnitrat	0,30	
Magnesiumsulfat × 7 H_2O	0,32	
Magnesiumnitrat × 6 H_2O	0,53	
Eisenzitrat	0,15	
Borsäure	0,001	
Mangansulfat	0,0005	
Zinksulfat	0,00015	

DUGGAR-Lösung: 50 g Eisencitrat und 55 g $Na_2HPO_4 \times 12\ H_2O$ wurden unter Schütteln in 100 cm³ Aqua dest. gelöst (dauert etwa 3 Tage bis zur vollständigen Lösung). Diese Stammlösung ist lange haltbar.

Nicotiana tabacum var. „Samsun", seit Jahren im MPI für Biologie ausnahmslos unter Selbstung in Kultur, diente als Wirtspflanze für das TMV. Zur Anzucht wurde Saatgut auf sterilem Sand angekeimt. 1—2 Wochen nach dem Auflaufen wurden die Keimlinge auf 1:2 mit Aqua dest. verdünnte Nährlösung gebracht. Spätestens nach weiteren 2 Wochen wurden die jungen Pflänzchen auf Nährlösung normaler Konzentration (s. Tabelle 2) umgesetzt. Die Anzucht bis zur Inokulation mit Virus erfolgte im insektensicheren Gewächshaus.

Vor der Inokulation wurde die Nährlösung erneuert und danach bis zum Ende der Versuche (= spätestens bei Blühbeginn) nur noch mit Aqua dest. aufgefüllt.

d) Das Infektionsmaterial. Das Ausgangsmaterial für den Grünstamm *vulgare* (MELCHERS 1942) (vgl. Abb. 1 und 5) wurde in 18 sukzessiven Einzelherdkulturen auf *Nicotiana glutinosa* gereinigt. Anschließend wurden „Java"-Tabak-Pflanzen (MELCHERS, SCHRAMM, TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA 1940) mit Material von je einer Nekrose inokuliert und die Vermehrung bei 14° C, 85% rel. Feuchtigkeit und 16 Std Licht/Tag in einer Klimakammer durchgeführt. 4 Wochen nach der Inokulation waren 7 von 8 Pflanzen noch frei von Gelbflecken, die 8. Pflanze hatte 1 Gelbfleck; 7 von den 8 Pflanzen hatten jedoch sekundäre Nekrosen (1—3 je Pflanze). Als Ausgangsmaterial für sämtliche *vulgare*-Infektionen der hier beschriebenen Versuche diente portionenweis eingefroren aufbewahrter Preßsaft der einen Pflanze, die weder Gelbflecken noch sekundäre Nekrosen, also keine auffindbaren Verunreinigungen, aufgewiesen hatte.

flavum (MELCHERS 1942) (vgl. Abb. 3), dreimal in Einzelherden über *Nicotiana glutinosa* bei Grenzverdünnung geführt und im Gewächshaus auf „Samsun"-Tabak vermehrt, war das Ausgangsmaterial für den „Rückmutations"-Versuch. Wie eine Gruppe von Kontrollen im Gewächshaus sowie der Versuch selbst zeigten, trat unter normalen Bedingungen unter 27 Pflanzen kein Rückschlag zu Grünstämmen auf. Das Infektionsmaterial könnte demnach nur sehr geringe Mengen *vulgare*-ähnlicher Verunreinigungen enthalten haben.

e) Standardmethode zur Bestimmung des TMV-Gehalts in größeren Mengen Pflanzensubstanz. Für eine zuverlässige Bestimmung der Viruskonzentration ist neben einem entsprechend standardisierten Aufarbeitungsgang, der das Virus zwar möglichst quantitativ erfassen, vor allem aber gut reproduzierbare Ergebnisse liefern soll, auch eine genügend genaue Methode zur quantitativen Bestimmung der extrahierten Virusmengen erforderlich.

Die Abtrennung von Virus aus einem Homogenat erfolgt meist durch differentielle (= abwechselnd hoch- und niedertourige) Zentrifugation. Man kann aber unter Ausnutzung

der großen Hitzestabilität des TMV auch die Normalproteine aus einem Homogenat durch Koagulation bei 60° C abtrennen und behält dann eine ziemlich reine TMV-Lösung zurück. Schlegel und Rawlins (1953) erwiesen die eindeutige Überlegenheit dieses Verfahrens für quantitative Arbeiten. Unter Verwertung eigener Vorversuche und der von Schlegel und Rawlins angegebenen Methodik wurde der in Tabelle 3 dargestellte Aufarbeitungsgang entwickelt. Er vereint gute und einigermaßen schonende Extraktion des Ausgangsmaterials mit befriedigender Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (Schwankungen 2—3%). Die sehr hohen Ausbeuten — in günstigen Fällen über 10 mg Virus je Gramm frisches Blattmaterial — sind höchstwahrscheinlich auf die guten Kulturbedingungen zurückzuführen. Ein Vergleich unseres Aufarbeitungsganges mit denen von Takahashi (1951) wurde nicht durchgeführt. — Takahashi erreichte ebenso hohe Ausbeuten nach Aufarbeitung von Gewächshauspflanzen nur unter Aufschluß des Materials mit Schneckenenzym.

Tabelle 3. *Methode zur Konzentrationsbestimmung von Tabakmosaikvirus in (gefrorenem) Planzenmaterial*

Blätter abschneiden, Mittelrippe entfernen, Spreiten einfrieren

↓

25 g abwiegen in Becherglas

↓

zerschneiden, in Homogenisator (= Multimix$_X$) einfüllen

↓

100 cm³ m/10 PO_4-Puffer p_H 7,0 hinzufügen

↓

Motor 3 × 2 min laufen lassen (mit 30 sec Pause jeweils)

↓

Mixinhalt in 250 cm³ Meßkolben abfüllen

↓

Mix-Gefäß mit Puffer nachspülen, Meßkolben auf 250 cm³ auffüllen

↓

Umfüllen in Becherglas

↓

unter kräftigem Rühren 10 cm³ Proben abpipettieren und in Zentrifugengläser einfüllen

↓

Gläser in Kältemischung einfrieren

↓

in gefrorenem Zustand aufbewahren (mindestens 24 Std bis Weiterverarbeitung eingefroren lassen!)

↓

Röhrchen in 20° Wasserbad auftauen

↓

anschließend 15 min in 60° Wasserbad

↓

20 min bei 1000 g zentrifugieren

↓

vom Überstand 5 cm³ in Ultrazentrifugen-Becher abpipettieren

↓

90 min bei 65000 g zentrifugieren

↓

Überstand verwerfen, Röhrchen 5 min auf Filtrierpapier abtropfen lassen

↓

auf Bodensatz 3 cm³ m/100 PO_4-Puffer p_H 7,0

↓

über Nacht bei + 2° C stehen lassen

↓

Abpipettieren: 5 mal kräftig durchziehen, Pipettenspitze dabei auf den Boden des Röhrchens aufsetzen

↓

Abfüllen in 10 cm³ Meßkölbchen, UZ-Röhrchen mit 2 cm³ Puffer 3 mal nachspülen

↓

auf 10 cm³ auffüllen

↓

200 mal von Hand kräftig durchschütteln

↓

abfüllen in Zentrifugenglas

↓

20 min bei 1000 g zentrifugieren

↓

vom Überstand 5 cm³ in 25 cm³-Meßkölbchen abpipettieren

↓

auffüllen mit Puffer

↓

im Beckman bei 2600 Å messen, einer density von 0,1 entspricht in unserem Fall 27,5 γ TMV-Protein je Kubikzentimeter

↓

auf 10^{-3} weiterverdünnen, Aktivität auf *Nicotiana glutinosa* austesten (Blatthälftenmethode)

Die im Beckman-Spektrophotometer gemessene Lösung enthält im Kubikzentimeter das Virus aus 0,01 g des aufgearbeiteten Frischmaterials

Die älteste Methode zur Bestimmung des Virusgehalts beruht auf der Änderung des Infektionserfolges (= Zahl primärer Nekrosen, z. B. auf *Nicotiana glutinosa*) mit Änderung des Virusgehalts in der Inokulationslösung (Holmes 1929). Diese Methode ist für sich allein in unserem Falle ungeeignet, da mit ihr nur infektiöses Virus erfaßt werden kann. Nicht mehr infektiöses (= inaktiviertes) Virus, wie es in ± größeren Mengen in jedem Präparat vorhanden ist, muß chemisch, physikochemisch oder serologisch bestimmt werden. In der vorliegenden Untersuchung wurde die Viruskonzentration daher 1. im Infektivitätstest auf *Nicotiana glutinosa* nach der Blatthälften-Methode. 2. spektrophotometrisch, durch UV-Absorption der phosphatpuffer-löslichen Anteile im Beckman-Spektrophotometer (Modell DU)

bei 2600 Å, und 3. durch Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs ermittelt. Es sei schon hier darauf hingewiesen, daß sich die nach diesen 3 Methoden erhaltenen Ergebnisse größtenteils überraschend gut decken. — In einigen Fällen wurde auch das volle UV-Absorptionsspektrum zwischen 2200 Å und 3000 Å aufgenommen. Bis auf nicht genauer deutbare Unterschiede in der Absorption bei 2480 Å, die sich besonders bei dem 17°-Material bemerkbar machen, decken sich die erhaltenen Kurven weitgehend mit dem von TAKAHASHI angegebenen Absorptionsspektrum für das TMV.

Beschreibung der Versuche

Im einzelnen wurden 1 Versuch über die Mutabilität des *flavum* zu Grünstämmen und 4 Versuche über die Mutabilität des *vulgare* zu solchen Formen durchgeführt, die sich als hellere Flecken aus den normalen *vulgare*-Symptomen herausheben (Abb. 1).

Abb. 3. Reine Symptome des Gelbstammes *flavum* des TMV (MELCHERS 1942) auf „Java"-Tabak

Die Untersuchungstechnik für die beiden Mutationsrichtungen ist nicht gleich. Während sich an *vulgare*-infizierten Pflanzen die Zahl der hellen Flecken je Pflanze als ein Maß für die Mutanten je Pflanze verwenden läßt, ist dies im umgekehrten Fall nicht möglich. Die aus *flavum* zu erwartenden Grünstämme sind dem Ausgangsmaterial (= *flavum*) überlegen und verdrängen es allmählich aus der Sproß-Spitze, so daß hier die Symptome eines Grünstammes entstehen (Abb. 3—5). An älteren, nicht mehr wachsenden Pflanzenteilen oder Pflanzen vollzieht sich dieser Symptomwandel nicht mehr, weshalb ein eventueller Gehalt zu „Grüntyp" mutierten Virus nur durch Überimpfung auf junge Pflanzen nachgewiesen werden kann, auf denen sich die Grünstämme schnell durchsetzen. Für den Versuch „*flavum* zu Grünstämmen" wurde entsprechend verfahren[1].

[1] Bei diesen Abimpfungen wurde von einer *flavum*-inokulierten „Samsun"-Tabakpflanze, die bei 27° C gehalten worden war, ein Gelbstamm isoliert, der auf „Java"-Tabak und auf *Nicotiana sylvestris* primäre Nekrosen verursacht. Auf „Samsun"-Tabak ließen Art der primären Chlorosen, sekundäre Gelb-Dunkelgrün-Fleckung, Stärke der Wachstumsbeeinflussung und die „Ontogenese" der Virussymptome trotz peinlich genauen biologischen Vergleichs keine Unterschiede erkennen. Es wird vermutet, daß dieser Stamm in einem einzigen Mutationsschritt aus *flavum* entstanden ist. Dieser Stamm wurde später für Mutationsversuche verwendet und *flavum necans* oder kurz *necans* genannt (MUNDRY 1957).

Infektion erfolgte bei allen Temperaturversuchen einheitlich durch Aufreiben der Viruslösung (= Inokulation) auf das erste gut ausgebildete Blatt (s. MUNDRY 1957). Dieses Blatt ist gegenüber den jüngeren meist noch etwas mehr rundlich.

Abb. 4. „Rückschlag" eines Gelbstammes des TMV zu Grünstämmen (*flavum* auf „Java"-Tabak): die Mutante (der Grünstamm) ist dem Ausgangsmaterial (Gelbstamm *flavum*) selektionistisch überlegen und hat sich an den jüngsten Blättern bereits vollkommen durchgesetzt. Das Ausgangsmaterial wird von der Mutante umwuchert und daher auf mehr oder weniger kleine Flecken eingeengt

Abb. 5. Reine Symptome des Grünstammes *vulgare* des TMV (MELCHERS 1942) auf „Java"-Tabak

In allen Versuchen wurde das Wachstum der Pflanzen in regelmäßigen Messungen der Sproß-Höhe verfolgt. Zusätzliche Wachstumsmessungen und Bestimmungen der Viruskonzentration wurden jedoch nur am Material des 3. Versuches nach dessen Beendigung vorgenommen. Konzentrationsbestimmungen des Virus in den *flavum*-inokulierten Pflanzen des 1. Versuches sind sinnlos, weil *flavum* höchstens $^1/_{10}$ der Konzentration erreicht, die normalerweise Grünstämme in den Pflanzen zu bilden vermögen. Bei der Ausbreitung eines Grünstammes in einer *flavum*-kranken Pflanze ist somit ein erheblicher Anstieg der

Viruskonzentration zu erwarten. Eine UV-spektrophotometrische Unterscheidung zwischen der *flavum*-Konzentration und der der entstandenen Grünstämme ist nicht möglich.

Versuch 1: flavum zu Grünstämmen: Kulturtemperaturen 17, 22, 27 und 32° C, je Gruppe 27 „Samsun"-Tabakpflanzen in Wasserkultur, Inokulation mit dem Gelbstamm *flavum* (s. S. 410) und Versuchsbeginn am 23. 12. 52; Alter der Pflanzen zu diesem Termin 10 Wochen; Sproßhöhe 3 cm.

flavum-Primärsymptome (Chlorosen) am 30. 12. 52 gezählt; Versuchsdauer für die einzelnen Gruppen unterschiedlich: soweit die Pflanzen zur Blüte kamen, wurden die Abimpfungen zur Prüfung auf Gehalt an Grünstämmen beim Öffnen der ersten Blüte und stets von den obersten Blättern, in einigen Fällen auch zusätzlich von den Korollen vorgenommen. In allen anderen Fällen erfolgte die Abimpfung 7—9 Wochen nach der Inokulation (Ergebnisse Tabelle 4, Abb. 12).

Versuch 1b: flavum zu Grünstämmen (Ergänzung zum 1. Versuch). Kulturtemperatur 25° C, 27 „Samsun"-Tabakpflanzen in Wasserkultur, Inokulation mit *flavum* und Versuchsbeginn am 19. 3. 53; *flavum*-Primärsymptome gezählt am 23. 3. 53; Versuchsende am 13. 5. 53, nur 26 Pflanzen ausgewertet; sonst wie voriger Versuch, (Ergebnisse ebenfalls Tabelle 4, Abb. 12).

Tabelle 4. *Ergebnisse des 1. Versuchs* (*flavum* zu Grünstämmen)

Temperatur in der Klimakammer in C	17°	22°	25°	27°	32°
Zahl der Pflanzen je Gruppe	27	27	26	27	27
Primäre Chlorosen je inokuliertes Blatt	16,7	18,0	10,0 [1]	19,1	10,9
Zahl der Pflanzen mit *flavum*-Sekundärinfektion	27	27	23	10	0
von diesen durchschnittliche Höhe der Sprosse 29 Tage nach der Inokulation in cm	25,5	51,9	63,0	88,7	— [2]
Pflanzen mit „mutiertem" Virus	0	24	22	10	4 [3]
Pflanzen ohne Sekundärsymptome [4]	0	0	3	17	23
Häufigkeit der Pflanzen mit Sekundärinfektion mit „mutiertem" Virus in Prozent derer mit Sekundärinfektion	0	89	95,5	100	100

[1] Da aus einem anderen Versuch, mit den Werten für 17, 22, 27 und 32° C Kulturtemperatur nicht quantitativ vergleichbar.

[2] Durchschnittliche Höhe der *symptomfreien* Pflanzen: 52,8 cm.

[3] In dieser Gruppe trat überhaupt keine *flavum*-Sekundärinfektion mehr ein. Die 4 Pflanzen mit verändertem Virus zeigten bei 32° kaum feststellbare Zeichen eines sekundären Symptoms. Nach Abimpfung auf junge „*Samsun*"-Pflanzen und Kultur im Gewächshaus entwickelten sich jedoch etwas besser sichtbare Symptome typischer „abgeschwächter" Stämme (sog. „*mild strains*"). Das ist ein neuer Beweis dafür, daß bei höherer Kulturtemperatur schwache Grünstämme gegenüber den anderen selektionistisch begünstigt sind.

[4] Diese Pflanzen sind nicht nur frei von sekundären Symptomen gewesen, sondern haben sich nach Abimpfungsversuchen auf *Nicotiana glutinosa* als tatsächlich virusfrei erwiesen (das ursprünglich inokulierte Blatt war abgestorben). Es lagen also keine maskierten Infektionen vor.

Versuch 2: vulgare zu Gelbstämmen. Kulturtemperaturen 17, 22, 25, 27 und 32° C, 20 „Samsun"-Tabakpflanzen in Wasserkultur je Gruppe ($7^1/_2$ Wochen alt), Versuchsbeginn und Inokulation mit *vulgare* am 8. 6. 53, Versuchsende am 24. 7. 53, Ergebnisse Tabelle 5, bei der 17°-Gruppe nur 19 Pflanzen ausgewertet.

Tabelle 5. *Ergebnisse des 2. Versuchs* (*vulgare* zu Gelbstämmen)

Temperatur in der Klimakammer in C	17°	22°	25°	27°	32°
Zahl der Pflanzen je Gruppe	19	20	20	20	20
davon mit Sekundärsymptomen	2	18	18	20	19
Durchschnittliche Sproßhöhe der Pflanzen in cm	42,6	60,1	58,7	65,2	75,3
Pflanzen mit Gelbflecken	0	12	13	15	17
Pflanzen mit Sekundärsymptomen in Prozent der inokulierten	10,5	90	90	100	89,5
Pflanzen mit Gelbflecken in Prozent derer mit Sekundärsymptomen	0	66,5	72,5	75,0	95

Versuch 3: vulgare zu Gelbstämmen. Kulturtemperaturen 17, 22, 27, 31 und 35° C, 20 „Samsun"-Tabakpflanzen in Wasserkultur je Gruppe (4 Wochen alt!), Versuchsbeginn und Inokulation am 5. 8. 53, Versuch beendet am 20. 8. 53.

In diesem Versuch wurden Sproßhöhe und Gelbfleckenzahl alle 2—3 Tage protokolliert und nach Abbruch des Versuchs zusätzliche Bestimmungen des Frisch- und Trockengewichts, der Blattfläche sowie der Viruskonzentration durchgeführt. Absolutwerte der Ergebnisse in Tabelle 6, graphischer Vergleich in den Abb. 6, 7, 9, 10 und 11.

Tabelle 6. *Ergebnisse des 3. Versuchs* (*vulgare* zu Gelbstämmen)[1]

Temperatur in der Klimakammer in C	17°	22°	27°	31°	35°
Zahl der Pflanzen je Gruppe	19	20	20	20	20
Sproßhöhe je Pflanze in cm	10,0	10,9	18,3	20,1	14,0
Frischgewicht je Pflanze in g	21,7	27,2	34,0	37,0	29,6
Blattfläche je Pflanze in cm^2	336	471	485	524	492
Absolutes Trockengewicht des Blattmaterials je Pflanze in g	2,45	2,61	2,93	3,00	2,34
Relatives Trockengewicht des Blattmaterials je Pflanze in Prozent des Blattfrischgewichts	11,2	9,6	8,62	8,1	7,9
Aus der 4. Aufarbeitung:					
Viruskonzentration nach Messungen					
der UV-Absorption bei 2600 Å in mg Virus je g Blattfrischgewicht	8,98	10,52	10,70	—[2]	3,77
des Kjeldahl-N in mg Virus je g Blattfrischgewicht	7,56	10,20	10,62	—	3,58
der Infektivität auf *Nicotiana glutinosa* (Einzelherde in Prozent des 22°-Wertes)	57,2	100,0	104,8	77,4	49,8
Gelbfleckensumme aller Pflanzen	56	92	128	248	710
Gelbflecken je Pflanze	3	4,6	6,4	12,4	35,5
Absolute Virusmenge im Blattmaterial je Pflanze[3] in mg	164	282	360	260	103

[1] Vergleiche hierzu die Abb. 6, 7, 9, 10 und 11.

[2] In den ersten 3 Aufarbeitungen lag jedesmal der Beckman-Wert für die Viruskonzentration bei 31° genau auf der geraden Verbindung der für 27 und 35° erhaltenen Werte. Deshalb wurde beim Material aus der 4. Präparation von einer nochmaligen Bestimmung des 31°-Wertes abgesehen (in den Beckman- und Kjeldahl-Bestimmungen), beim Infektivitätstest wurde auf die 31°-Gruppe jedoch nicht verzichtet.

[3] Produkt aus dem Mittel der Bestimmungen aller 4 Aufarbeitungen und dem Blattfrischgewicht je Pflanze.

Die bisherigen Befunde (Abb. 6) ließen erkennen, daß die temperaturbedingte Erhöhung der Zahl Gelbflecken je Pflanze überwiegend auf dem vermehrten Auftreten frühzeitig erscheinender Flecken beruht. Das führte zu der Frage, ob der Effekt statt durch ständige Kultur bei erhöhter Temperatur nicht auch durch eine relativ kurzdauernde, „schock"-ähnliche Temperaturerhöhung erzielt werden kann. Außerdem war in diesem Zusammenhang zu prüfen, ob ein dann auftretender Effekt erhöhter Kulturtemperatur auf die Gelbfleckenhäufigkeit vom Termin der Behandlung (bezogen auf das Alter der Infektion) abhängig ist. Zur experimentellen Klärung dieser Fragen wurden die beiden folgenden Versuche angesetzt.

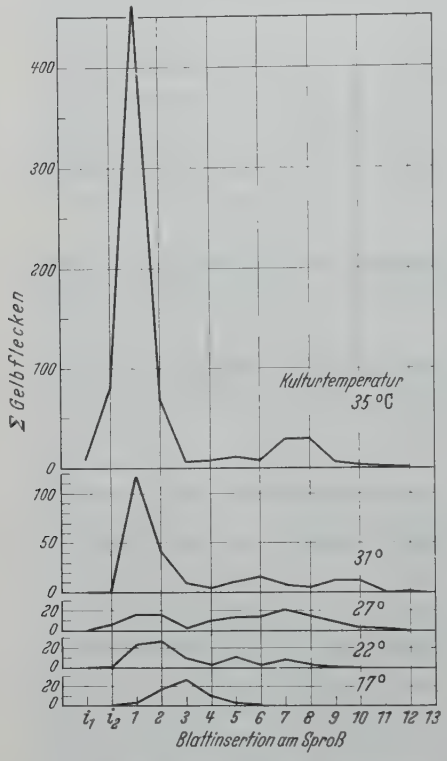

Abb. 6. Zusammenhang zwischen Gelbfleckenzahl je Blatt und Blattinsertion am Sproß bei verschiedenen Kulturtemperaturen (Material: „Samsun" - Tabakpflanzen). — *Abszisse:* Blattinsertion am Sproß; i_1 und i_2 kennzeichnen die beiden zu Beginn des Versuchs inokulierten Blätter; 1, 2, 3 ... usw. die auf diese Blätter folgenden bis zur Sproßspitze. — *Ordinate:* Gelbfleckensumme für die betreffenden Blätter von 19 Pflanzen bei 17° und 20 Pflanzen bei allen übrigen Kulturtemperaturen

Versuch 4: vulgare zu Gelbstämmen. Effekt einer Erhöhung der Kulturtemperatur für 24 Std auf 35° C auf Infektionen verschiedenen Alters.

Zwölf gleiche Gruppen à 21 „Samsun"-Tabakpflanzen in *Topf*kultur (etwa 5 Wochen alt) wurden am 25. 11. 53 mit *vulgare* inokuliert. Zwei Gruppen wurden unmittelbar anschließend an die Inokulation in die Klimakammern gestellt, davon eine Gruppe bei 35° C, 85% relativer Feuchtigkeit und Dauerlicht, die 2. Gruppe bei 22° C und sonst gleichen Bedingungen. Alle übrigen Gruppen wurden nach der Inokulation im Gewächshaus bei einer Temperatur von $22° \pm 2°$ C aufgestellt. Nach 24 Std wurde das erste Gruppenpaar in den Klimakammern gegen ein zweites aus dem Gewächshaus ausgetauscht, nach weiteren 24 Std dieses gegen ein drittes und so fort, bis schließlich die beiden letzten Gruppen am Ende des 5. Tages nach der Inokulation aus den Klimakammern genommen wurden. Alle Gruppen kamen unmittelbar anschließend an ihren Aufenthalt in den Klimakammern wieder zu den anderen Pflanzen ins Gewächshaus zurück. Ein Paar von 2×21 Pflanzen blieb während der ganzen Versuchsdauer als Kontrolle im Gewächshaus und wurde dort so aufgestellt, daß die Mittelwerte der Fleckenzahlen dieser beiden Gruppen die durch Standortsverschiedenheiten im Gewächshaus möglichen Extreme repräsentierten.

Zwei Wochen nach der Inokulation wurden die Gelbflecken ein erstes Mal (8. 12. 53), einen Monat später ein zweites Mal (8. 1. 54) gezählt. Ergebnisse Tabelle 7 und Abb. 8.

Im Anschluß an diesen Versuch galt es in einem letzten Experiment zu testen, wieweit im Impfmaterial schon vorhandene Verunreinigungen allgemein und besonders solche unter den Bedingungen unserer Klimakammern in Erscheinung treten, von denen bekannt ist, daß sie sich bei hoher Temperatur durchsetzen.

Versuch 5. Im wesentlichen wurde dieselbe Technik wie im 4. Versuch angewandt, doch wurden zusätzlich verunreinigte *vulgare*-Präparate inokuliert (s. Tabelle 8). Die Ergebnisse dieses Versuches bestätigen den Befund aus dem 4. Versuch, daß eine 24stündige Erhöhung der Kulturtemperatur auf 35° C die Häufigkeit der aus *vulgare* entstehenden Flecken steigert. Im Gegensatz zum 4. Versuch sind hier die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen jedoch nicht statistisch gesichert, weshalb auf die Wiedergabe der Ergebnisse im einzelnen verzichtet werden soll. Tabelle 8 enthält eine schematische Darstellung der (statistisch gesicherten) Gesamtbefunde. Aus diesen geht hervor, daß die Häufigkeit der aus den Verunreinigungen (*flavum*) entstehenden Flecken mit Steigerung der Kulturtemperatur abnimmt, was ein weiterer Beweis für die Unterlegenheit des *flavum* gegenüber *vulgare* bei erhöhter Temperatur ist. „*mild strains*"[1], wie sie ebenfalls als Verunreinigung mit inokuliert worden waren, bilden in Mischung mit *vulgare* anscheinend keine „Gelb"-flecken.

Tabelle 7. *Ergebnisse des 4. Versuchs* (*vulgare* zu Gelbstämmen)[1]

Termin des Aufenthalts in der Klimakammer in Stunden nach der Inokulation	Temperatur in der Klimakammer	Summe der auf den 21 Pflanzen jeder Gruppe aufgefundenen Gelbflecken[2]	
		14 Tage	46 Tage
	°C	nach der Inokulation	
0—24	35	382 ± 176	547 ± 172
	22	186 ± 117	341 ± 120
25—48	35	349 ± 148	500 ± 168
	22	189 ± 59	378 ± 92
49—72	35	282 ± 77	422 ± 88
	22	160 ± 54	353 ± 92
73—96	35	245 ± 110	410 ± 74
	22	137 ± 44	328 ± 66
97—120	35	219 ± 60	454 ± 74
	22	139 ± 64	381 ± 90
Gewächshauskontrollen; Durchschnittstemperatur 22° ± 2° C	Standort I	135 ± 100	372 ± 114
	Standort II	117 ± 39	321 ± 24

[1] Vgl. hierzu Abb. 8.

[2] Der Fehlerbereich der Mittelwerte wurde nach der t-Tafel von Koller (1943) berechnet; die Werte für das „totale p" nach Pätau (1943) bestimmt: der Effekt der 35°-Behandlung ist gegenüber der 22°-Klimakammer-Kontrolle mit einem totalen p kleiner als 10^{-7} (!), jeder 35°-Wert von seinem korrespondierenden 22°-Wert gut gesichert. Die Abweichung der 22°-Werte von Beginn des Versuchs bis zum Ende des 3. Tages (72. Std nach der Inokulation) ist gegenüber der Gewächshauskontrolle mit einem totalen $p = 0{,}0075$ gesichert.

Die Ergebnisse der Versuche und ihre Diskussion

An der Mutabilität phytopathogener Viren kann nicht mehr gezweifelt werden. Es fragt sich aber, ob die von anderen Autoren beobachtete Erhöhung der Zahl Gelbflecken als Folge einer Abhängigkeit der Mutationsrate von der Temperatur oder als Selektionsphänomen gedeutet werden muß. Zunächst die quaestio facti:

Ist die positive Temperaturabhängigkeit der Gelbfleckenzahlen reproduzierbar? Die Häufigkeit der Gelbflecken ist ohne jeden Zweifel positiv temperaturabhängig. Jung infizierte und sehr gut wachsende Pflanzen zeigen das besonders deutlich (Ergebnisse des 3. Versuches, Tabelle 6, Abb. 7). Sind etwas ältere Pflanzen inokuliert worden, entstehen wesentlich weniger Gelbflecken je Pflanze. Auch kann bei älteren Pflanzen die Ausbildung der Sekundärsymptome verzögert werden oder ganz ausbleiben. Unter solchen Umständen wäre es falsch, die durchschnittliche Zahl der Gelbflecken je Pflanze zur Beurteilung der Temperaturabhängigkeit der Gelbfleckenhäufigkeit zu verwenden. Vielmehr ist in diesen

[1] Vgl. Fußnote 3 zu Tabelle 4, S. 414.

Fällen die (relative) Häufigkeit der Zahl Pflanzen mit Gelbflecken in Prozent derer, die überhaupt Sekundärsymptome entwickelt haben, als Maß für die Gelbfleckenhäufigkeit zu wählen. Auch bei derartiger Betrachtung ist der Einfluß der Kulturtemperatur auf das Auftreten von Gelbflecken nicht zu verkennen (Tabelle 5, Abb. 7). Damit sind die Befunde anderer Autoren (McKINNEY, MELCHERS) einwandfrei bestätigt. Nicht bestätigt werden konnte McKINNEYs Befund über die Existenz eines Temperaturoptimums für die Gelbfleckenhäufigkeit bei 32° C. Entgegen McKINNEYs Angaben wurde über den gesamten untersuchten Temperaturbereich zwischen 17° und 35° C ein ununterbrochener, immer stärker werdender Anstieg der Gelbfleckenzahlen gefunden (Abb. 7).

Tabelle 8. *Schematische Darstellung der Ergebnisse des 5. Versuchs*

Pflanzen infiziert mit	Termin des Aufenthaltes in der Klimakammer in Stunden nach der Inokulation	Häufigkeit der Gelbflecken je Pflanze in Abhängigkeit von der Kulturtemperatur (2 und 5 Wochen nach der Inokulation)
vulgare allein	0—24	bei 35° mehr als bei 22°
	73—96	bei 35° mehr als bei 22°
vulgare + 10% *flavum*	0—24	bei 22° mehr als bei 35°
vulgare + 10% „*mild strains*“[1]	73—96	bei 22° mehr als bei 35°

[1] Vgl. Fußnote 3 zu Tabelle 4, S. 414.

Eine genauere Analyse der temperaturbedingten Zunahme der Gelbfleckenhäufigkeit führte zu dem Befund, daß die Erhöhung der Gelbfleckenzahlen weitgehend auf diejenigen Flecken zurückgeht, die zusammen mit den ersten Sekundärsymptomen auftreten (Abb. 6). Die Zahl der später erscheinenden Flecken wird dagegen nur unerheblich beeinflußt. Allerdings scheinen — bezogen auf die Blattinsertion am Sproß — „Nebenmaxima“ der Gelbfleckenhäufigkeit zu existieren, die möglicherweise mit der $^2/_5$ Blattstellung am Tabaksproß und der dementsprechenden Führung der Leitbündel zusammenhängen.

Ferner wurde festgestellt, daß bei kürzerer Einwirkung hoher Kulturtemperatur (35° C) der Einfluß einer solchen Behandlung auf die Gelbfleckenzahl je Pflanze vom Alter der Infektion und damit terminabhängig ist (Abb. 8). Der wesentlichste Einfluß erhöhter Kulturtemperatur ist zwischen Inokulation und dem Auftreten der ersten Sekundärsymptome zu datieren. Dieser Befund wurde im 5. Versuch reproduziert.

Welche Möglichkeiten können nun als Ursache für die Temperaturabhängigkeit der Gelbfleckenhäufigkeit ausgeschlossen oder diskutiert werden? Von den verschiedenen denkbaren Ursachen böte zweifellos die einer gleichlaufenden Temperaturabhängigkeit der Viruskonzentration die einfachste Erklärungsmöglichkeit. In diesem Fall müßte bei unveränderter Mutationsrate die Zahl der je Pflanze entstehenden Mutanten von der absoluten, in der Pflanze gebildeten Virusmenge abhängig sein.

Die Temperaturabhängigkeit der Viruskonzentration im Blattmaterial wurde in 4 getrennten Aufarbeitungen mit jeweils 3 verschiedenen Methoden ermittelt. Die Ergebnisse stimmen gut überein und zwar unabhängig davon, ob sie relativ durch Infektivitätstests auf *Nicotiana glutinosa* oder absolut durch Messungen der UV-Absorption der Präparate bei 2600 Å oder durch Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs erhalten wurden (Tabelle 6, Abb. 9). Sie zeigen den für eine Optimum-

kurve typischen Verlauf. Das Maximum liegt etwa bei 25° und ist deutlich von dem des Pflanzenwachstums getrennt (Abb. 10).

Die etwas andere Neigung der Infektivitätskurve im supraoptimalen Bereich hat keine besondere Bedeutung. Die Abweichung liegt innerhalb der Fehlergrenze. Das gleiche gilt für die Differenz zwischen dem Wert für die Infektivität und dem der Stickstoffbestimmung bei 17°. Die Mittelwerte aus allen Bestimmungen fallen hier bei 73% sogar genau zusammen. Andererseits ist die bei 17° gefundene Differenz zwischen der durch Stickstoffbestimmung

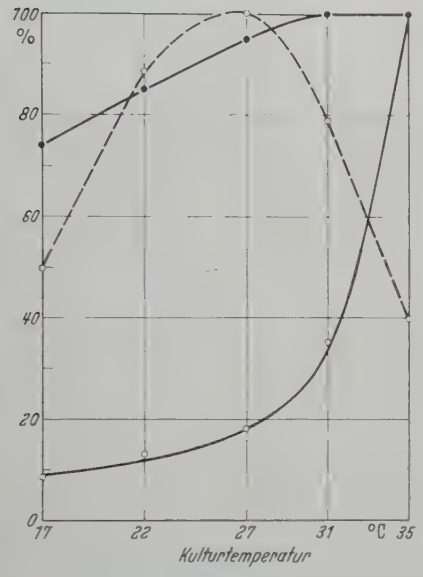

Abb. 7

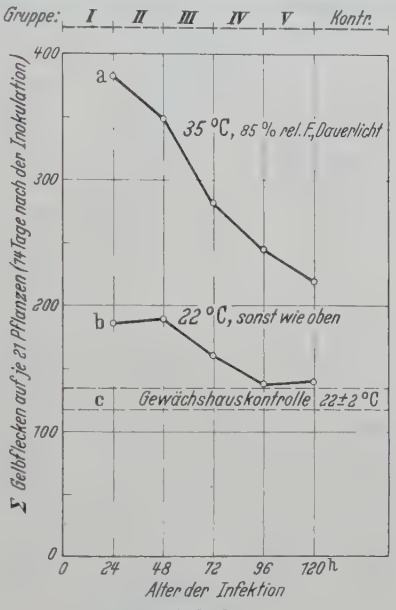

Abb. 8

Abb. 7. Zusammenhang zwischen Gelbfleckenhäufigkeit und Kulturtemperatur sowie zwischen absoluter Virusmenge im Blattmaterial je Pflanze und Kulturtemperatur (Material: „Samsun"-Tabakpflanzen). o———o Zahl „yellow spots" (s. Abb. 1) je Pflanze (100% ≈ 35,5); ●———● Häufigkeit der Pflanzen mit „yellow spots" in Prozent der inokulierten Pflanzen; o— — —o absolute Virusmenge im Blattmaterial je Pflanze (100% ≈ 170 mg)

Abb. 8. Abhängigkeit der Gelbfleckenzahl vom Termin einer 24stündigen Erhöhung der Kulturtemperatur von 22° (Gewächshaus) auf 35° (Klimakammer), bezogen auf das Alter der Infektion. Zeitpunkt 0 = Ende der Inokulation und Beginn des Klimakammer-Aufenthaltes der Gruppe I. — Die Pflanzen zu den Kurven a und b standen vor und nach ihrem Aufenthalt in der Klimakammer (35° bzw. 22° und Dauerlicht) im Gewächshaus bei 22° ± 2° C. Die Gewächshauskontrolle (c) bestand aus 2 Gruppen von Pflanzen ohne Klimakammer-Aufenthalt. Diese beiden Gruppen wurden so aufgestellt, daß sie die durch Standortsverschiedenheiten im Gewächshaus möglichen Extreme repräsentierten

erhaltenen Viruskonzentration und der in UV-Absorptionsmessungen gefundenen statistisch gesichert. Sie kann noch nicht befriedigend erklärt werden. Da nennenswerte Erhöhungen der „Mutantenzahlen" erst ab 27° Kulturtemperatur gefunden wurden, ist diese Diskrepanz für unseren Fall jedoch nur von untergeordneter Bedeutung.

Ähnlich wie die Viruskonzentration zeigt auch die Temperaturabhängigkeit der im Blattmaterial je Pflanze bestimmten *absoluten Virusmenge* den Verlauf einer Optimumkurve. Die absolute Virusmenge (= Produkt aus Viruskonzentration in Milligramm Virus je Gramm Blattfrischgewicht × Blattfrischgewicht je Pflanze) fällt im supraoptimalen Bereich sogar noch steiler ab als die Viruskonzentration. *Somit kann festgestellt werden, daß die temperaturbedingte Erhöhung der Gelbfleckenzahlen nicht auf eine gleichsinnige Erhöhung der Viruskonzentration*

oder der im Blattmaterial der Pflanzen aufgefundenen Virusmenge zurückgeführt werden kann.

Neben einer Beeinflussung über die Virusmenge wäre eine Abhängigkeit der Mutantenzahlen vom Wachstum der Wirtspflanzen denkbar. Auch in diesem Fall wäre eine Parallelität zwischen der Temperaturabhängigkeit der Mutantenzahlen und der der Wachstumsintensität der Pflanze Voraussetzung für eine eingehendere Diskussion.

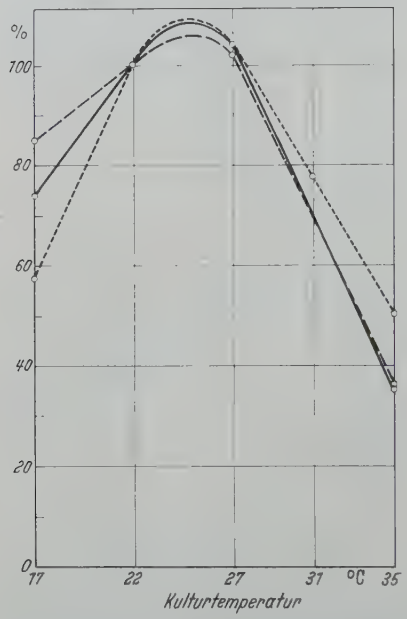

Abb. 9

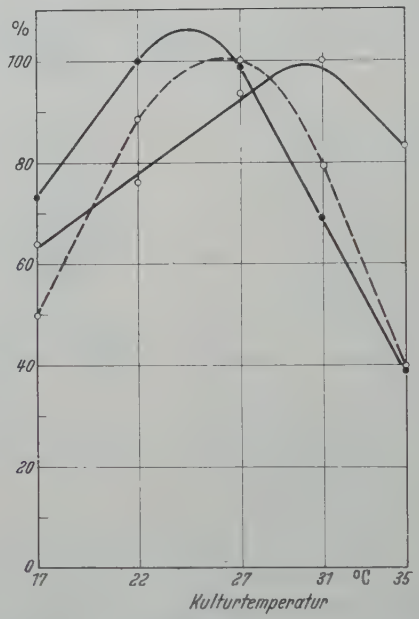

Abb. 10

Abb. 9. Die Abhängigkeit der Viruskonzentration im Blattmaterial *vulgare*-infizierter „Samsun"-Tabakpflanzen von der Kulturtemperatur der Pflanzen, nach drei verschiedenen Methoden getestet: o----o Infektivität auf *Nicotiana glutinosa* (100 % ≈ 11,2 Läsionen je Blatthälfte); o———o Kjeldahl-Stickstoff-Bestimmung (100 % ≈ 10,2 mg Virus je Gramm frisches Blattmaterial); o——o UV-Absorption bei 2600 Å (100 % ≈ 10,5 mg Virus je Gramm frisches Blattmaterial)

Abb. 10. Absolute Virusmenge im Blattmaterial je Pflanze (o——o, 100 % ≈ 170 mg TMV-Protein), Viruskonzentration im Blattmaterial (●———●, Mittel aus 4 getrennten Aufarbeitungen, 100 % ≈ 10,4 mg Virus je Gramm frisches Blattmaterial) und Wachstum (o———o, in % des Maximums) *vulgare*-inokulierter Samsun-Tabakpflanzen in ihrer Abhängigkeit von der Kulturtemperatur der Pflanzen. — Die Kurve für das Pflanzenwachstum stellt das arithmetische Mittel (jedoch ohne relatives Blatt-Trockengewicht!) der Werte aus Abb. 11 dar

Die Abhängigkeit des Wachstums der Wirtspflanzen von der Kulturtemperatur zeigt wie die der Viruskonzentration im Gegensatz zu der Temperaturabhängigkeit der Gelbfleckenzahlen den Verlauf einer Optimumkurve (Abb. 10). Die einzelnen Komponenten des Pflanzenwachstums weisen dabei (mit einer Ausnahme) ziemlich einheitliches Verhalten auf. Sproßhöhe, Frischgewicht, absolutes Trockengewicht und Blattfläche je Pflanze nehmen mit steigender Kulturtemperatur mehr oder weniger gleichmäßig zu und erreichen bei etwa 31° C ihr Maximum (Tabelle 6, Abb. 11).

Mehr als alle anderen Komponenten wird das Flächenwachstum der Blätter durch die *vulgare*-Infektion beeinflußt. Die Art der Temperaturabhängigkeit der Blattfläche infizierter Pflanzen weicht wohl deshalb von der der übrigen Größen etwas ab. Leider läßt sich ohne weitere Bestimmungen nicht entscheiden, ob die angedeutete Zweigipfligkeit der Kurve

wirklich eine Zweigipfligkeit in dem Sinne ist, daß 2 unterschiedliche Faktoren zu getrennten Maxima für die Blattfläche führen, oder ob bei 27° eine starke Depression des Wachstums der Blätter erfolgt, die beiderseits dieses Wertes nachläßt und möglicherweise mit der absoluten, in den Blättern vorhandenen Virusmenge in Beziehung steht. Die Stärke der Symptome an den Blättern der Sproßspitze war folgendermaßen temperaturabhängig:

$$17^0 < 22^0 < 27^0 > 31^0 > 35^0,$$

was für die letztgenannte Erklärungsmöglichkeit spricht.

Auffallend gegenüber diesen Befunden ist die völlig andersartige Abhängigkeit des relativen Trockengewichts der Blattsubstanz von der Kulturtemperatur.

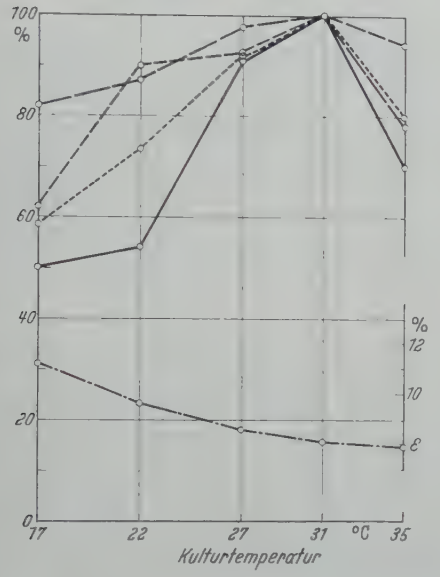

Abb. 11

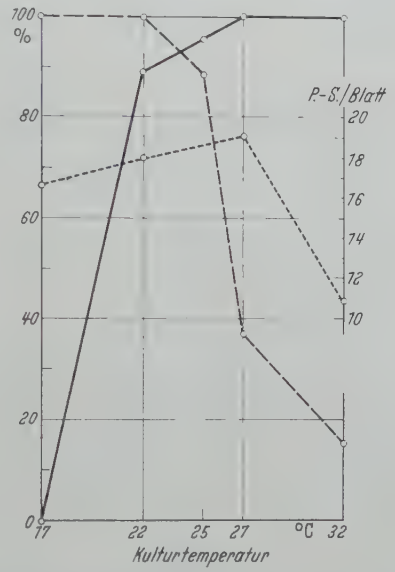

Abb. 12

Abb. 11. Die Abhängigkeit einzelner Komponenten des Wachstums *vulgare*-infizierter „Samsun"-Tabakpflanzen von der Kulturtemperatur: *Ordinate links:* o———o mittlere Sproßhöhe je Pflanze (100 % ≈ 20,1 cm); o- - - -o mittleres Frischgewicht je Pflanze (100 % ≈ 37,0 g); o—— ——o mittleres Trockengewicht je Pflanze (100 % ≈ 3,00 g); o— — —o mittlere Blattfläche je Pflanze (100 % ≈ 524 cm²). *Ordinate rechts:* o—•—o Mittel des relativen Trockengewichts der Blattsubstanz in Prozent des Blattfrischgewichts

Abb. 12. Zusammenhang zwischen „Rückschlag"-Häufigkeit des Gelbstammes *flavum* zu Grünstämmen und Kulturtemperatur sowie zwischen *flavum*-Inokulationserfolg und Kulturtemperatur der Wirtspflanzen (Material: „Samsun"-Tabakpflanzen). o———o Häufigkeit der Pflanzen mit „mutiertem" Virus (s. Abb. 4) in Prozent der Pflanzen mit Sekundärinfektion; o— — —o Häufigkeit der Pflanzen mit Sekundärinfektion; o- - - - -o Zahl primärer Symptome (= Chlorosen) je inokuliertes Blatt

Das Trockengewicht der Blattsubstanz in Prozent des Blattfrischgewichts zeigt mit steigender Kulturtemperatur eine kontinuierliche Verminderung. Dieses Verhalten legt den Verdacht nahe, daß der Wassergehalt der Blätter als physikalisches Gleichgewicht zwischen Transpiration und Wasserzuleitung durch das Gefäß-System unter sonst konstanten Bedingungen von der Temperaturabhängigkeit der Transpiration gesteuert wird. Leider konnten Paralleluntersuchungen an gesunden Pflanzen nicht durchgeführt werden.

Diese Ergebnisse erlauben den Schluß, daß die Intensität des Wachstums der Wirtspflanzen zu der temperaturbedingten Erhöhung der Gelbfleckenzahlen nicht in ursächlicher Beziehung steht. Im Gegenteil zeigt sich, daß für unseren Fall des *vulgare*-TMV die Virusvermehrung unabhängig vom Wachstum der Wirtspflanzen ihr eigenes Temperaturoptimum hat und damit wahrscheinlich auch nicht mittelbar — etwa über die Reproduktionsgeschwindigkeit des Virus —

ursächlichen Einfluß auf die Gelbfleckenzahl und deren Temperaturabhängigkeit hat.

Der Temperatureffekt auf die Gelbfleckenhäufigkeit läßt sich also weder durch einfache Erhöhung der Viruskonzentration in der Pflanze erklären, noch mit der Wachstumsintensität der Wirtspflanze und deren Temperaturabhängigkeit in unmittelbaren Zusammenhang bringen. *Als wesentliche Lücke bleibt daher die Frage offen, ob die Erhöhung der Gelbfleckenzahlen auf einen mutagenen Effekt erhöhter Kulturtemperatur zurückgeführt werden muß oder ob eine Selektion von Stämmen mit erhöhtem Temperaturoptimum ihrer Vermehrung vorliegt.*

Selektion könnte sofort ausgeschlossen werden, wenn „Hin-" und „Rück"-Mutation des untersuchten Mutationsschrittes gleichgerichtete Temperaturabhängigkeit aufweisen; denn Selektion könnte nur für eine „Mutationsrichtung" als Erklärungsmöglichkeit herangezogen werden, der Erhöhung der Häufigkeit des Auftretens neuer Stämme in der anderen Richtung müßte dann ein *mutagener* Effekt der erhöhten Temperatur zugrunde liegen. Tatsächlich zeigt der „Rückmutations"versuch (1. Versuch) von *flavum* zu Grünstämmen, daß die Zahl der Rückschläge in Prozent der Pflanzen, die überhaupt Sekundärsymptome entwickelt haben, ebenfalls temperaturabhängig ist und stetig und bis auf 100% steigt (Tabelle 4, Abb. 12).

Es muß jedoch beachtet werden, daß sich nicht beweisen läßt, ob wirklich der gleiche Mutationsschritt einmal als „Hin-" und im anderen Fall als „Rück"-Mutation beobachtet wurde. Außerdem tritt mit steigender Kulturtemperatur eine zunehmende Hemmung der Bildung von Sekundärsymptomen ein. Durch Abimpfung von den Sproß-Spitzen symptomfreier Pflanzen auf *Nicotiana glutinosa* ließ sich beweisen, daß die Pflanzen, die keine Sekundärsymptome entwickelt hatten, auch wirklich virusfrei waren (die ursprünglich inokulierten Blätter waren abgestorben). Erhöhte Kulturtemperatur hemmt also die *flavum*-Ausbreitung (dies wird bestätigt durch Befunde des 5. Versuchs, Tabelle 8). Sie führt aber auch zu einer Depression der *flavum*-Primärsymptome: von 27° nach 32° ist ein gesicherter Rückgang der Zahl *flavum*-Chlorosen je inokuliertes Blatt um fast 50% zu verzeichnen. *Diese Befunde schließen eine positive Temperaturabhängigkeit der flavum-Vermehrung innerhalb des untersuchten Bereiches weitgehend aus.* Sie lassen keinen Zweifel an der zunehmenden selektiven Benachteiligung des *flavum* durch erhöhte Kulturtemperatur.

Es manifestieren sich im Fall der Rückmutation von *flavum* zu Grünstämmen ausgesprochen selektiv überlegene Stämme, und zumindest dieser Schritt kann ohne Schwierigkeiten als Selektionsereignis erklärt werden. — *Damit ist als letzte wesentliche Frage die zu entscheiden, ob das Virus in den Gelbflecken ein höheres Temperaturoptimum seiner Vermehrung hat.*

Diese Frage ließe sich experimentell beantworten, erfordert aber wegen der sehr großen Zahl von notwendigen Abimpfungen und Einzelherdübertragungen einen kaum zu bewältigenden Arbeitsaufwand, zumal theoretisch für Material aus jedem protokollierten Fleck das Temperaturoptimum der Virusvermehrung bestimmt werden müßte. Die folgenden Überlegungen müssen mit Vorsicht als Arbeitshypothese gewertet werden und zwar um so mehr, als es MELCHERS (unpubliziert) gelang, aus einem Gelbfleck auf einer mit *vulgare* inokulierten und bei 35° C kultivierten Pflanze ein Virusmaterial zu isolieren, das für die Ausprägung von Gelbsymptomen ein höheres Temperaturoptimum zu haben scheint

(beachte hierzu Seite 424, 2. Absatz). Indessen gibt es einige beachtenswerte Hinweise, die die gewünschte Entscheidung ohne weitere experimentelle Arbeit zu erlauben scheinen. Für die folgenden Erörterungen ist die Entwicklungsgeschichte der entstehenden Flecken von besonderer Bedeutung. Um sie genauer darstellen zu können, muß eine kurze Erläuterung des Infektionsverlaufs in der Pflanze an dieser Stelle eingeschoben werden.

Man kann 3 Etappen der Virusausbreitung in der Pflanze unterscheiden: 1. Primärinfektion, 2. Übertritt des Virus aus den primären Infektionsherden in die Leitbahnen und Ferntransport, und 3. Übertritt des Virus nach erfolgtem Transport ins Parenchym nicht experimentell (= unmittelbar von außen) infizierter Pflanzenteile (= Sekundärinfektion).

Während des ersten Stadiums, der *Primärinfektion*, breitet sich das Virus unter starker Vermehrung, von Zelle zu Zelle durch die Plasmodesmen vordringend, mehr oder weniger kreis- bzw. halbkugelförmig um die erste, von außen durch Verwundung infizierte Zelle aus. Dadurch entstehen die primären Infektionsherde, die, wenn sie sichtbar sind, als Primärsymptome bezeichnet werden. Handelt es sich, wie bei den hier beschriebenen Versuchen, um ein sog. systemisches Virus, dann tritt das Virus bei Erreichen der Leitbahnen in das Phloem über und wird dort mit ziemlich großer Geschwindigkeit abtransportiert. In anderen Pflanzenteilen verläßt es das Phloem wieder und tritt in das Parenchym nicht direkt experimentell infizierter Blätter über. Dieser Vorgang wird als *Sekundärinfektion* bezeichnet und führt meist zur Ausbildung besonders typischer Sekundärsymptome. In diesem Zusammenhang ist noch wichtig zu vermerken, daß nach unseren derzeitigen Kenntnissen die Vermehrung des TMV weitgehend, wenn nicht ausschließlich, im Parenchym zu erfolgen scheint, für viele andere Virusarten gilt das keineswegs (Crafts 1951).

Das TMV dringt während seiner Ausbreitung in der Pflanze also zweimal in breiter Front gegen gesundes Gewebe vor: einmal während der Ausbreitung der primären Infektionsherde und das zweite Mal beim Austritt des Virus aus den Leitbahnen während der Sekundärinfektion. Da nach unseren bisherigen Kenntnissen jeder Virusstamm für seine Manifestation mindestens *eine* virusfreie Zelle benötigt[1] [denn nahverwandte Stämme eines Virus können sich nicht nebeneinander in ein und derselben Zelle vermehren (Thung 1931, Salaman 1933, Sadasivan 1940, Mundry 1957)], können sich Mutanten auch nur dann manifestieren, wenn sie zufällig als erste in eine virusfreie Zelle gelangen. Die Wahrscheinlichkeit für ein mutiertes Partikel, in eine noch virusfreie Zelle zu gelangen, ist zweifellos dann am größten, wenn es sich an der Front der Virusausbreitung befindet oder dorthin transportiert wird.

Dringt eine Mutante, die sich an dieser Front befindet, in eine virusfreie Zelle ein, infiziert diese und nach einiger Vermehrung die Nachbarzellen, dann wird sie über kurz oder lang vom Ausgangsmaterial umwuchert, wenn sie dem Ausgangsmaterial selektiv unterlegen ist, d. h. eine geringere Vermehrungsrate und

[1] Nach neuesten Befunden Bendas (1957) ist es zwar möglich, Partikel verschiedener Virusstämme durch ein und dieselbe Zelle hindurch zur Infektion kommen zu lassen, doch kann es sein, daß die experimentell infizierte Zelle (Haarzelle von *Nicotiana glutinosa*) nur als Verteiler der unterschiedlichen Partikel auf die Nachbarzellen wirkt. Als Beweis für die *gleichzeitige* Vermehrung von Partikeln verschiedener Stämme eines Virus *in einer Zelle* können diese Ergebnisse nicht angesehen werden, worauf übrigens auch Benda ausdrücklich hinweist.

damit eine gegenüber dem Ausgangsmaterial geringere Ausbreitungsgeschwindigkeit hat. Die Folge dieser Umwucherung ist eine kleine Insel von Zellen, die gegenüber denen ihrer Umgebung andersartiges Virus enthalten, z. B. ein „Gelb"-fleck. — Umgekehrt ist zu erwarten, daß eine dem Ausgangsmaterial *überlegene* Mutante nicht auf solche Inseln begrenzt bleibt, sondern ihrerseits das Ausgangsmaterial umwuchert. In diesem Fall bleibt also das Ausgangsmaterial in mehr oder weniger kleinen Zellinseln oder „Flecken" in den Symptomen der schnell vordringenden Mutante zurück. Sehr wahrscheinlich befinden sich am Vegetationspunkt auch kräftig durchinfizierter Pflanzen noch virusfreie Zellen (LIMASSET und CORNUET 1951). Damit muß auch hier eine Front zwischen virushaltigen und virusfreien Zellen existieren, an der ebenfalls ein „Wettlauf" zwischen überlegenen und unterlegenen Stämmen stattfindet. Eine überlegene Mutante wird sich hier mit Sicherheit manifestieren. Ein gutes Beispiel dafür ist die „Rückmutation" von *flavum* zu Grünstämmen (vgl. Abb. 3 und 4).

Es muß an dieser Stelle erwähnt werden, daß auch das Vorkommen eines selektiv *überlegenen* Stammes in einer solchen Zellinsel *denkbar* ist. Es genügt die Annahme, eine selektiv überlegene Mutante entstünde an einem Ort im Parenchym, dessen Umgebung, besonders die Zellen um die Leitbündel herum, bereits restlos vom — selektiv unterlegenen — Ausgangsmaterial besetzt sind. Der überlegenen Mutante ist damit die Möglichkeit des Anschlusses an das Gefäß-System sehr erschwert, wenn nicht gar ganz verwehrt. Sie muß demnach auf ihren Fleck begrenzt bleiben und kann ihre Überlegenheit erst nach Abimpfung erweisen. Derartige Verhältnisse könnten z. B. für den bereits erwähnten Befund MELCHERS' (S. 422) verantwortlich sein, zumal von MELCHERS aus technischen Gründen ein möglichst großer Gelbfleck für die Abimpfung ausgewählt wurde. Man wird erwarten dürfen, daß ein solches Ereignis selten eintritt und die überwiegende Zahl von Flecken *unterlegenes* Virus enthält. Selbstverständlich bedürfen derartige Spekulationen eines guten experimentellen Unterbaus, um weiterer Diskussionen wert zu sein.

Auf Grund dieser Überlegungen muß die Größe der Flecken von der Differenz der Ausbreitungsgeschwindigkeiten der beiden miteinander konkurrierenden Stämme abhängig sein. Sie muß damit ein Maß dafür sein, wieweit das Virus in den Flecken dem seiner Umgebung selektiv unterlegen ist. Der experimentelle Beweis für diese Annahme steht noch aus. Er kann durch Messungen der Fleckengröße bzw. Zellzahl je Fleck und durch Abimpfungen erbracht werden.

Die ursprünglich entscheidende Frage, ob das Virus in den Gelbflecken, die bei erhöhter Kulturtemperatur vermehrt auftreten, ein gegenüber dem Ausgangsmaterial höheres Temperaturoptimum seiner Vermehrung hat, bleibt damit unentschieden. Sie verliert jedoch ihr Gewicht und erscheint in einem anderen Licht durch folgende Befunde:

1. Als weitgehend temperaturabhängig erwies sich nur die Zahl der mit den ersten Sekundärsymptomen auftretenden Flecken (Abb. 6).

2. Bei kurzzeitigen Einflüssen erhöhter Kulturtemperatur ist der Effekt einer Erhöhung der Kulturtemperatur für 24 Std auf 35° abhängig vom Alter der Infektion und zwar dann am größten, wenn der Temperatur„schock" kurz nach der Inokulation gegeben wird (Abb. 8, Ergebnisse des 4. und 5. Versuchs).

Wie sind diese Befunde zu interpretieren? Die Erhöhung der Gelbfleckenzahl muß auf eine Erhöhung der Konzentration an infektiösen Einheiten der Gelbstämme zurückgeführt werden. Diese Erhöhung ist jedoch bereits *vor* Beginn der Sekundärinfektion erfolgt, denn zum Zeitpunkt der Sekundärinfektion befanden sich die Pflanzen längst wieder im Gewächshaus unter normalen Kulturbedingungen (22°). Gerade zum Beginn der Sekundärinfektion, während der das Virus in breiter Front

gegen gesundes Gewebe vordringt, sind die Chancen für eine selektiv überlegene Mutante, sich zu manifestieren, besonders groß. Trotzdem bleiben die Mutanten auf kleine Flecken begrenzt. *Das bedeutet aber, daß die Masse der Gelbflecken auf selektionistisch unterlegene Virusstämme zurückgeht und Erhöhung der Kulturtemperatur auf 35° in vulgare-infizierten Pflanzen eine wirkliche Steigerung der Mutationsrate zur Folge hat.* Das wiederum heißt aber, daß das TMV auf einen mutagenen Effekt hoher Kulturtemperatur während seiner Vermehrung in den Zellen der Wirtspflanze besonders leicht reagiert. Die leichte mutagene Beeinflussung eines Virus während seiner Vermehrung läßt sich wohl am einfachsten so erklären, daß bei erhöhten, für die Wirtspflanze schon fast subletalen Temperaturen sich geringfügige „Fehlschaltungen" während der Virusvermehrung mit größerer Häufigkeit ereignen. Eine weitere Stütze für diese keineswegs neue Hypothese sind die Befunde von Larson u. Mitarb. (1952, 1955), denen zufolge Stickstofflost nur auf Virus in der lebenden Pflanze mutagen wirkt, eine Behandlung von Virus mit Senfgas in vitro aber keinen Einfluß auf die Mutationsrate hat, und die vergeblichen Versuche anderer Autoren, die Mutationsrate durch Behandlung von Virus in vitro zu erhöhen (Kausche und Stubbe 1939; Köhler 1942; Melchers 1948; Mundry 1957). Die wenigen positiven Angaben über eine Erhöhung der Mutationsrate durch Behandlung von Virus in vitro (Köhler 1939; Gowen 1941) lassen sich zwanglos als Selektionsphänomen deuten (Mundry 1957). Die Summe dieser Daten erhöht den Verdacht, daß für das Mutationsereignis bei phytopathogenen Viren dem dynamischen Ablauf des Reproduktionsprozesses die entscheidende Bedeutung zukommt und Virusmutanten ihre Entstehung einer Fehlreproduktion verdanken.

Die Versuche wurden in den Jahren 1951—1954 im Max-Planck-Institut für Biologie durchgeführt. Für die Anleitung danke ich Herrn Professor Melchers. Ferner danke ich Frl. Ursula Engelmann für ihre Mithilfe bei den Infektionen und allen übrigen Institutsangehörigen, die sich der mühevollen Aufgabe widmeten, die Kinderkrankheiten der Klimaanlage überwinden zu helfen.

Summary

Tobacco plants infected with tobacco mosaic virus were grown at different temperatures between 17° and 35° C. The number of symptoms deviating from those normally produced by the inoculum during the growth of the plants was observed to increase with a rise in temperature. The effect was observed for yellow strains (yellow spots Fig. 1) arising from the normal strain *vulgare* (Fig. 7, Table 6) as well as for green strains arising from the yellow strain *flavum* (Fig. 3, 4, 12; Table 4).

The temperature effect on the number of yellow spots can be correlated neither with the concentration of the virus in the leaves (which varies with temperature, Fig. 9, 10) nor with the rate of plant growth (which, of course, also varies with temperature, Fig. 11, 10).

The special temperature effect was limited mainly to those leaves which showed the early secondary symptoms (= vein clearing, Fig. 6).

It is not necessary to submit the entire growth period in order to achieve an increase in the number of new strains. Keeping the infected tobacco plants at 35° C for only 24 hours is sufficient, and the most effective period is the one following immediately after inoculation (Fig. 8; Table 7).

Considering the ways how yellow spots originate, how the different virus strains may compete with one another, and how the mutants manifest themselves,

it *seems likely* that the observed effect of temperature is not caused by changes in the selection of mutants during plant growth and virus multiplication but by changes in the mutation rate of the virus.

Literatur

Bawden, F. C.: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass.: Chronica Botanica Company 1950. — Benda, G. T. A.: Infection of Nicotiana glutinosa L. following injection of two strains of tobacco mosaic virus into a single cell. Virology **2**, 820 (1956). — Crafts, A. S.: Movement of assimilates, viruses, growth regulators, and chemical indicators in plants. Bot. Review **17**, 203 (1951). — Friedrich-Freksa, H., G. Melchers u. G. Schramm: Biologischer, chemischer und serologischer Vergleich zweier Parallelmutanten phytopathogener Viren mit ihren Ausgangsformen. Biol. Zbl. **65**, 187 (1946). — Gowen, T. W.: Mutation in Drosophila, bacteria and viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **9**, 187 (1941). — Holmes, F. O.: Local lesions in tobacco mosaic. Bot. Gaz. **87**, 39 (1929). — Jensen, J. H.: Isolation of yellow mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic virus. Phytopathology **23**, 964 (1933). — Studies on the origin of yellow mosaic viruses. Phytopathology **26**, 266 (1936). — Studies on representative strains of tobacco mosaic virus. Phytopathology **27**, 69 (1937). — Kausche, G. A., u. H. Stubbe: Über die Entstehung einer mit Röntgenstrahlen induzierten Mutation des Tabakmosaikvirus. Naturwiss. **27**, 501 (1939). — Köhler, E.: Über das Auftreten abweichender Varianten bei den Cs-Stämmen des Kartoffel-X-Virus. Arch. Virusforsch. (Wien) **1**, 46 (1939). — Über vergebliche Versuche, beim Tabakmosaikvirus „Mutationen" in Rohsäften zu erzielen. Z. Pflanzenkrkh. **52**, 392 (1942). — Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1943. — Larson, R. H., M. A. Stahmann and J. C. Walker: The induction of mutants in potato virus X by nitrogen mustard. Proc. 2 nd Conf. on potato virus diseases. Wageningen: H. Veenman & Zonen 1955. — Larson, R. H., M. A. Stahmann, J. C. Walker and R. W. Colburn: Mutations of potato virus X induced by nitrogen mustard. (Abs.) Phytopathology **42**, 25 (1952). — Limasset, P., et P. Cornuet: Étude de la corrélation entre l'âge des organes aériens et la quantité de virus contenue dans ces derniers chez le tabac infecté par le virus de la mosaique du tabac. Ann. Épiphyties **1**, 274 (1950). — McKinney, H. H.: Evidence of virus mutation in the common mosaic of tobacco. J. Agricult. Res. **51**, 951 (1935). — Virus mutation and the gene concept. J. Hered. **28**, 51 (1937). — Melchers, G.: Über einige Mutationen des Tabakmosaikvirus und eine „Parallelmutation" des Tomatenmosaikvirus. Naturwiss. **30**, 48 (1942). — Phytopathogene Viren. Fiat rev. of german science 1939—1946. Biology, part I. Publ. by Office of Military Government for Germany. Wiesbaden: Dietrich'sche Verlagsbuchhandlg. 1948. — Melchers, G., e W. Mundry: „Mutation" und „Rückmutation" beim Tabakmosaikvirus in Abhängigkeit von der Kulturtemperatur der Wirtspflanzen. Proc. 9. Internat. Congr. Genetics, Bellagio. Caryologia (Pisa) **6**, Suppl., 1106 (1954). — Melchers, G., G. Schramm, H. Trurnit u. H. Friedrich-Freksa: Die biologische, chemische und elektronenmikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. Biol. Zbl. **60**, 524 (1942). — Mundry, K. W.: Über die Abhängigkeit der Mutabilität des Tabakmosaikvirus von Außenfaktoren. Diss. Tübingen 1954. — Zur Frage des Einflusses von Röntgen- und UV-Strahlen auf die Mutationsrate des Tabakmosaikvirus nach Bestrahlung reiner Präparate. Z. Vererbungslehre **88**, 115 (1957). — Norval, I. P.: Derivatives from an unusual strain of tobacco mosaic virus. Phytopathology **28**, 675 (1938). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (eine neue t-Tafel). Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Sadasivan, T. S.: A quantitative study of the interaction of viruses in plants. Ann. Appl. Biol. **27**, 359 (1940). — Salaman, R. N.: Protective inoculation against a plant virus. Nature (Lond.) **131**, 468 (1933). — Schlegel, D. E., and T. E. Rawlins: A comparison of two methods of preparing tobacco mosaic virus for spectrophotometric measures. Phytopathology **43**, 89 (1953). — Takahashi, N. W.: Ultraviolet absorption as a measure of tobacco mosaic virus nucleoprotein. Phytopathology **41**, 142 (1951). — Thung, T. H.: Smetstof en plantenal bij enkele virusziekten van de tabaksplant. Handelg. 6. Nederl.-Ind. Natuurwetensch. Congr. Bandoeng. S. 450, 1931. Zit. nach Bawden 1950. — Wittmann, H. G.: Untersuchungen über die Bedeutung von Temperatur und genetischer Konstitution für die Mutabilität von Bakteriophagen. Z. Vererbungslehre **88**, 128 (1957).

Dr. K. W. Mundry, Braunschweig, Langerkamp 5

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 427—433 (1957)

Aus dem Istituto di Genetica, Università, Pavia

PAPER PARTITION CHROMATOGRAPHY OF INTERSPECIFIC HYBRIDS IN THE GENUS *DROSOPHILA*

By

Renzo E. Scossiroli and Inge E. Rasmussen

With 8 Figures in the text

(Eingegangen am 9. Mai 1957)

An extension to the Genus *Drosophila* of the chromatographic technique in problems of taxonomy as developed by Buzzati-Traverso and Rechnitzer (1953), has recently shown that in the genus *Drosophila* different species have different chromatographic patterns (Rasmussen 1954a, 1954b). The differential features are recognizable both in one- and in two-dimensional chromatograms. Different species may be identified by the presence or absence of particular spots, and by quantitative differences concerning size or intensity of fluorescence under U.V. of common spots (see Rasmussen 1954a, 1954b).

Since hybrids between some species of *Drosophila* are readily obtained under laboratory conditions, it seemed worthwhile to study their chromatographic patterns.

Table 1 shows which interspecific crosses have been studied and the degree of affinity of the used species.

Table 1. *Progeny in the interspecific crosses. F = fertile, S = sterile*

Subgenus	Interspecific crosses (♀ × ♂)	Progeny
Drosophila	*D. spinofemora* × *D. setifemur*	F ♀♀ F ♂♂
	D. setifemur × *D. spinofemura*	F ♀♀ S ♂♂
Sophophora	*D. pseudoobscura* × *D. persimilis*	F ♀♀ S ♂♂
	D. persimilis × *D. pseudoobscura*	F ♀♀ S ♂♂
	D. pseudoobscura × *D. miranda*	F ♀♀ S ♂♂
	D. miranda × *D. pseudoobscura*	F ♀♀ S ♂♂
	D. melanogaster × *D. simulans*	only F ♀♀
	D. simulans × *D. melanogaster*	only S ♂♂
Pholadoris	*D. nitens* × *D. lebanonensis*	only S ♀♀ exeptionally S ♂ ♂
	D. lebanonensis × *D. nitens*	no progeny

Methods

Flies were reared on the standard cornmeal-agar-molasses medium to which a suspension of fresh yeast was added.

Overcrowding of the cultures was avoied by allowing only a limited number of eggs to develop in each vial.

Adult flies 14-days old or older were used in the case of the parental species as well as in that of the hybrids.

Decapitated flies (5—12) washed in ethanol and boiled for one minute in distilled water were squashed on Whatman no. 1 filter paper. Solvents used were

2 parts of n-propanol and 1 part of 1% ammonia (2 P:1 A) and 4 parts of n-butanol, 5 parts of distilled water and 1 part of glacial acetic acid (B:A). Observations were made using a B. L. Fixtube (15 watts) lamp.

The presented data are based on the observation of at least 6 two-dimensional chromatograms (2 chromatograms obtained at 3 different times) for each of the parental species and the hybrids studied. Different strains of the studied species (from the Type Culture Collection of *Drosophila*) gave similar results.

Results

A short account of the results obtained with one-dimensional chromatography, using the 2P:1A solvent has already been published (RASMUSSEN and SCOSSIROLI, 1954). It had been found that hybrids show a pattern revealing characteristic traits of both parental species. In some chromatograms of the hybrids a few spots were bigger and brighter than in the two parental species. These spots

Table 2. *Colour of fluorescent spots under U.V. ligth in the chromatographic pattern of inter- specific hybrids*[1]

Spot no. (see Fig. 1—8)	*spinofemora* × *setifemus*		*pseudoobscura* × *persimilis*		*pseudoobscura* × *miranda*	*melanogaster* × *simulans*		*lebanonensis* × *nitens*
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♀♀	♂♂	♀♀
1	y	ph	y	ph	y	y	ph	y
2	y	ph	y	ph	y	y	ph	y
2′								y
3	ph	ph	ph	ph	ph	ph	ph	ph
4	y	y	y	y	y	y	y	y
4′	y				y	y		
5	y	y	y	y	y	y	y	y
6	ghbh	y	b	y	b	b	y	bh
7	b	yhgh	bhph	y	bhph	bh	ghyh	b
8	bh	b	bh	b	bh	gh	b	bh
9	b	ghbh	ghyh	b	yh	bh	gh	ghyh
10	bh	rh		o	bh		bh	
11	yh	rh		o	bh		y	
12	yh	bhgh		o			y	
13	bh	y		yh			b	
14	ghbh	yh		b			y	
15	g	yh		y			y	
16		b		bh			yh	
17		gh		yh			bhph	
18		yh		bh				
19		bh		bh				

[1] y = yellow; b = blue; g = green; o = orange; yh = yellowish; bh = bluish; gh = greenish; ph = purplish; rh = reddish.

showed a phenomenon of exaggeration in terms of size and intensity of fluorescence. Since, however, one-dimensional chromatography gives only limited information because small spots may be masked by larger ones having similar R_f values, we thought it necessary to extend our analysis to two dimensions.

Table 2 indicates the colors of the various observed spots, for which arbitrary numbers are used, as shown in Figs. 1—8.

D. spinofemora × *D. setifemur*

Females (Fig. 1): spots 1 to 13 are present in the patterns characteristic of both species. *D. setifemur* can be distinguished from *D. spinofemora* because of spots 14 and 15, that are absent in the pattern of the latter species.

Hybrid females show a pattern identical to that of the species used as the mother. Spot no. 1 is exaggerated in size and brightness in hybrid females, as compared to that of the parental species.

Males (Fig. 2): the parental species can be distinguished on the basis of spot 19 which is present only in the pattern of *D. setifemur*.

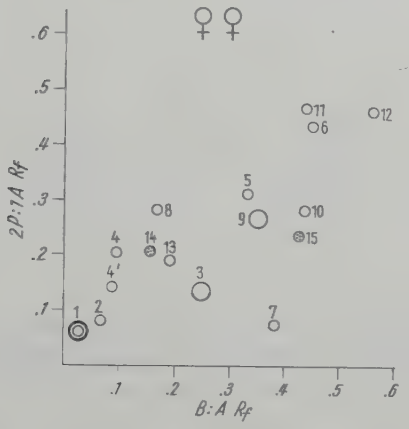

Fig. 1

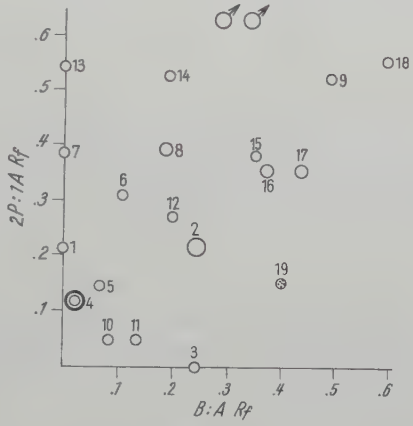

Fig. 2

Fig. 1. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid females from the cross *D. spinofemora* × *D. setifemur*. Spots no. 14 and 15 are present in the latter species and in the hybrid when *D. setifemur* is used as the mother

Fig. 2. Two dimensional chromatographic pattern of hybrid males from the cross *D. spinofemora* × *D. setifemur*. Spot. no. 19 is present in the latter species and in the hybrid when *D. setifemur* is used as the mother

The hybrid males also show the pattern of the species used as the mother in the crosses. Spot no. 1 shows the same phenomenon of exaggeration described for hybrid females.

D. persimilis × *D. pseudoobscura*

Females (Fig. 3): spots 1 to 7 are common to both parental species. *D. pseudoobscura* has one more spot, no. 8, that is lacking in the pattern of *D. persimilis*.

Hybrid females obtained from the reciprocal crosses have pattern similar to that of *D. persimilis*, and besides show an extra spot indicated by no. 9 in Fig. 3. The phenomenon of exaggeration in spot no. 1 is clearly exhibited in this case also by hybrid females.

Males (Fig. 4): *D. pseudoobscura* males can be identified because they have spots no. 16 and 17 that are absent from the pattern of *D. persimilis* males.

Hybrid males have all the spots 1 to 17, like *D. pseudoobscura* plus two new spots that are indicated as no. 10 and 19. While the pattern is basically the same in the hybrids obtained from the two reciprocal crosses, spot no. 18 is brighter when *D. persimilis* is used as female parent. Spot no. 1 is also exaggerated in hybrid males.

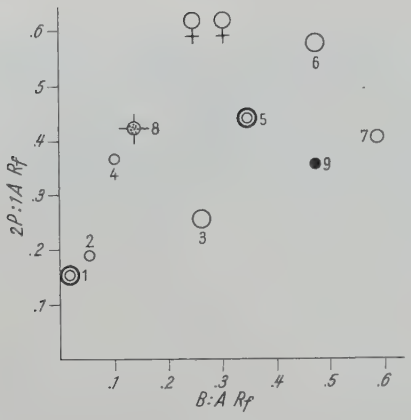

Fig. 3

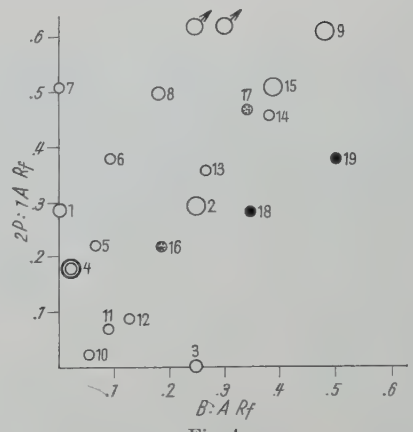

Fig. 4

Fig. 3. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid females from the cross *D. persimilis* × *D. pseudoobscura*. Spot no. 8 is absent from the former species and from the hybrid. Spot no. 9 is present only in the hybrid

Fig. 4. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid males from the cross *D. persimilis* × *D. pseudoobscura*. Spot no. 16 and 17 are present in the latter species and in the hybrid. Spots no. 18 and 19 are present only in the hybrid

D. pseudoobscura × *D. miranda*

Females (Fig. 5): spots 1 to 7 are present in the patterns of the two parental species. *D. miranda* can be distinguished from *D. pseudoobscura* because it shows no. 4' and no. 9 spots while the latter species may be distinguished from *D. miranda* by spot no. 8.

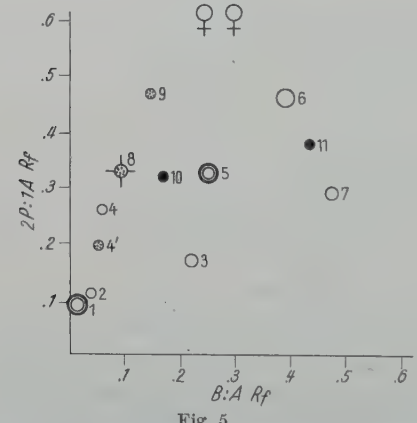

Fig. 5

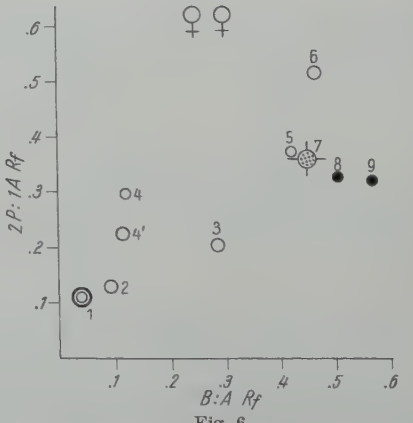

Fig. 6

Fig. 5. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid females from the cross *D. pseudoobscura* × *D. miranda*. Spot no. 4' and 9 are present in the latter species and in the hybrid while absent in *D. pseudoobscura*. Spot no. 8 is present in the former species while absent in *D. miranda* and in the hybrid. Spots no. 10 and 11 are present in the hybrid only

Fig. 6. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid females from the cross *D. melanogaster* × *D. simulans*. Spot no. 7 is absent from the latter species and from the hybrid. Spots no. 8 and 9 are present in the hybrid only

Only hybrid females have been obtained from crossing *pseudoobscura* females to *miranda* males. They show spots 1 to 7, common to both parents, plus spots 4' and 9, typical for *miranda*, plus two new spots no. 10 and 11. The phenomenon of exaggeration is shown by spots no. 1 and 5.

D. melanogaster × *D. simulans*

Females (Fig. 6): the parental species have the spots no. 1 to 6 as a common feature: they can be distinguished because *melanogaster* has an additional spot, no. 7.

Hybrid females obtained by crossing *melanogaster* females to *simulans* males possess spots 1 to 6 common to both parental species and two new spots, indicated in Fig. 6 by no. 8 and 9. The phenomenon of exaggeration is manifested by spot no. 1.

Males (Fig. 7): the spots present in the pattern of the two parental species are numbered 1 to 14. The males of the two species can be distinguished because

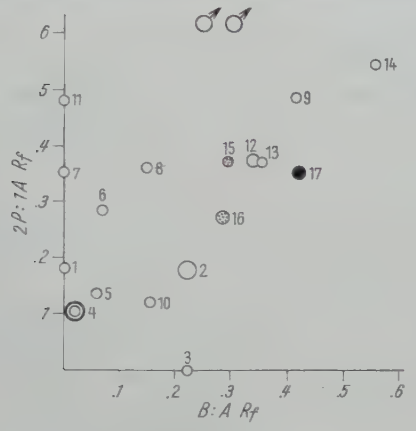

Fig. 7

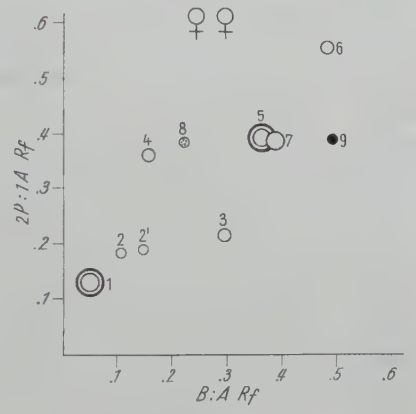

Fig. 8

Fig. 7. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid males from the cross *D. melanogaster* × *D. simulans*. Spots no. 15 and 16 are present in the former species and in the hybrid. Spot no. 17 is present in the hybrid only

Fig. 8. Two-dimensional chromatographic pattern of hybrid females from the cross *D. nitens* × *D. lebanonensis*. Spot no. 8 is present in the former species and in the hybrid. Spot no. 9 is present in the hybrid only

D. melanogaster has two extra spots, no. 15 and 16, absent from the pattern of *D. simulans*.

Hybrids males obtained from crossing *simulans* females with *melanogaster* males show all the spots identified in the latter species together with a new spot which is indicated by no. 17 in Fig. 7. The phenomenon of exaggeration is shown by spot no. 4.

D. nitens × *D. lebanonensis*

Females (Fig. 8): both species show spots 1 to 7. *D. nitens* can be distinguished from *D. lebanonensis* because of spot no. 8 is absent from the pattern of *D. lebanonensis*.

Hybrid females only can be obtained from crossing *D. nitens* females with *D. lebanonensis* males. Only occasionally does a hybrid males appear.

Hybrid females have a pattern similar to that of *D. nitens* but they show a new spot, no. 9. The phenomenon of exaggeration is clearly shown by the spots no. 1 and 5.

Conclusions

The results obtained by the application of the chromatographic technique to the study of interspecific hybrids seem of interest because they indicate that hybrids have a pattern easy distinguishable from that of the parental species. Since this technique can be used also on single flies, it will be of use in the study of wild populations when it is necessary to know the frequency of hybrids between two sympatric species or between allopatric species having overlapping distribution. The technique used is advantageous also because of its simplicity. A feature of our results that needs to be stressed is the appearance of new spots in the hybrid patterns. We cannot state if the substances thus identified are already present in the pattern of the parental species at too low concentration to be detected or if they are really new and typical to the hybrids only.

On the basis of data published by Hadorn and Mitchell (1951), de Lerma and de Vincentiis (1955) and de Lerma (1955) it can be concluded that there exists a correspondence between some of the spots observed in the two dimensional patterns of the species and hybrids studied and some of those described for *D. melanogaster* by Hadorn and Mitchell.

Spot no. 1 in the pattern of females and spot no. 4 in the pattern of males seem to correspond to spot *Fl 2* for *D. melanogaster*. According to de Lerma and de Vincentiis (1955) this spot is due to a riboflavin mononucleotide.

Spot no. 3 in the pattern of females and no. 2 in the pattern of males seem to correspond to *Fl 3* for *D. melanogaster*, this is due to isoxantopterin (2 amino-4,7-dihidroxipteridin), according to de Lerma and de Vincentiis (1955).

Spot no. 5 in the pattern of females and no. 15 in the pattern of males of the crosses *spinofemora* × *setifemur* and *persimilis* × *pseudoobscura* and spot no. 12 in the pattern of males of the cross *melanogaster* × *simulans* may be tentatively referred to riboflavin on the basis of the fluorescent colour and position with 2P:1A (de Lerma, 1955), and B:A (Crammer, 1948, Hais and Pecakova, 1949) as solvents.

The spots which show the phenomenon of exaggeration of size and intensity of fluorescent colour in the pattern of the two sexes in all the hybrids studied is due to a riboflavin mononucleotide (*Fl 2*), and to riboflavin in the pattern of some hybrids (*persimilis* × *pseudoobscura*, *pseudoobscura* × *miranda*, *nitens* × *lebanonensis*). In view of the general metabolic significance of both substances (Wigglesworth 1950, de Lerma and de Vincentiis 1955, de Lerma 1955) their greater amount in the hybrids appears noteworthy.

It is interesting to compare with these the results of the immunological investigations on interspecific and intergeneric hybrids in birds obtained by Irwin and Collaborators, reviewed by Irwin, 1952. It was shown that hybrids gave evidence of immunological reactions that were not present in the parental species; this fact was due, according to the Authors, to „hybrid substances" present in the hybrids only.

The exaggeration of size and intensity of fluorescence of some spots in hybrid flies points to either a greater production or to an accumulation of some substances. At this stage we are unable to discriminate between the two hypotheses.

Summary

Paper chromatographic analysis of interspecific hybrids within the Genus *Drosophila* showed that they present a biochemical pattern different from either parental species. Sometimes new spots appear in the chromatogram of the hybrid, while in all cases spots present in the pattern of the parents appear much more intense. These spots have been identified as a riboflavin mononucleotide and riboflavine.

References

Buzzati-Traverso, A. A., and A. B. Rechnitzer: Paper partition chromatography in taxonomic studies. Science (Lancaster, Pa.) **117**, 58—59 (1953). — Crammer, J. L.: Paper chromatography of flavine nucleotides. Nature (Lond.) **161**, 349—350 (1948). — Hadorn, E., and H. K. Mitchell: Properties of mutants of *Drosophila melanogaster* and changes during development as revealed by paper chromatography. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **37**, 650—665 (1951). — Hais, I. M., and L. Pecakova: Paper partition chromatography of riboflavine decomposition products. Nature (Lond.) **163**, 768 (1949). — Irwin, M. R.: Specificity of gene effects. Heterosis, pp. 236—255. Ames Ia.: Iowa State College Press 1952. — Lerma, B. de: Valore di sostanze a nucleo pteridinico come precursori chimici del pigmento rosso degli occhi di *Drosophila melanogaster* Meig. Boll. Zool. **22**, 197—201 (1955). — Lerma, B. de, e M. de Vincentiis: Identificazione chimica e valutazione biologica delle sostance fluorescenti di *Drosophila melanogaster* Meig. Ricerche cromatografiche e di spettrometria di fluorescenza. Boll. Zool. **22**, 1—15 (1955). — Rasmussen, I. E.: Differenze sistematiche e differenze biochimiche nel genere *Drosophila*. Boll. Zool. **21**, 339—343 (1954). — Aspetti biochimici di affinità sistematiche in *Drosophila*. Convegno di Genetica. Ric. Sci. **25**, Suppl., 59—66 (1955). Rasmussen, I. E., e R. E. Scossiroli: L'impiego della cromatografia su carta nello studio di ibridi interspecifici in *Drosophila*. Boll. Zool. **21**, 329—338 (1954). — Scossiroli, R. E., and I. E. Rasmussen: Paper chromatography of interspecific hybrids in *Drosophila*. Drosophila Inform. Serv. **28**, 155—156 (1954). — Wigglesworth, V. B.: The principles of insect physiology. London: Methuen & Co. 1950.

Dr. Renzo E. Scossiroli, Istituto di Genetica, Università, Via Sant' Epifanio, 14
Pavia (Italien)

Zeitschrift für indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 88, S. 434—442 (1957)

Aus dem Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie (Abteilung Lüers), Berlin-Dahlem (Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Nachtsheim)

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG DER VERTEILUNG SPONTANER UND DURCH CHINON I (BAYER G 4073)[1] INDUZIERTER MUTATIONEN ÜBER DIE GENETISCHE KARTE DES X-CHROMOSOMS VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

H. J. Belitz

(Eingegangen am 1. Mai 1957)

Einleitung

Die Entscheidung, ob eine physikalische bzw. chemische Noxe die Mutationsrate steigert, ist in den meisten Fällen verhältnismäßig leicht zu treffen. Schwieriger ist dagegen die Frage zu beantworten, ob ein Mutagen die spontane Mutationsrate generell steigert oder auf einzelne Loci oder Chromosomenabschnitte spezifisch einwirkt. Das gilt besonders für Objekte, bei denen die Untersuchung der Mutationsraten einzelner Gene einen erheblichen technischen Aufwand erfordert. Bei *Drosophila melanogaster* werden aus methodischen Gründen im allgemeinen die Mutationen des Geschlechtschromosoms untersucht. Die meisten hier erfaßten Erbänderungen besitzen eine rezessive Letalwirkung und lassen sich deshalb nicht im Kreuzungstest auf Allelie prüfen. Als *einzige* Möglichkeit der genetischen Analyse bleibt das Lokalisationsverfahren mit Hilfe eines markierten X-Chromosoms. Über die Verteilung durch verschiedene Noxen induzierter Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* liegt eine Reihe von Untersuchungen vor. Muller (1928), Oliver (1932) und Spencer und Stern (1948) untersuchten die Verteilung von Erbänderungen, die durch Röntgenstrahlen erzeugt worden waren.

Die Verteilung chemisch induzierter Mutationen wurde beschrieben nach Anwendung von Senfgas (Slizynska und Slizynski 1947), Äthylurethan (Vogt 1950), Stickstofflost (Burdette und Haddox 1952), Triäthylenmelamin (Belitz 1954, Fahmy und Fahmy 1956), Diepoxybutan und p-N-Di(chloräthyl)phenylalanin (Fahmy und Fahmy 1956). Ein Vergleich der bis 1954 veröffentlichten Verteilungen untereinander erlaubte uns keine Entscheidung über das Vorliegen von Unterschieden. Fahmy und Fahmy (1956) kamen dagegen zu dem Ergebnis, daß die von ihnen untersuchten chemisch induzierten Mutationen anders über die genetische Karte des X-Chromosoms verteilt sind als die zum Vergleich herangezogenen röntgeninduzierten Mutationen von Spencer und Stern (1948). Die von Fahmy und Fahmy erhaltenen Ergebnisse mit Triäthylenmelamin stimmen mit unseren früheren Resultaten gut überein. Dennoch erscheint uns ein Vergleich der Ergebnisse von Untersuchern, die nicht nur mit verschiedenen Mutagenen, sondern auch mit verschiedenen *Drosophila*-Stämmen gearbeitet haben, allein schon deshalb bedenklich, weil die spontanen Mutationsraten der einzelnen

[1] 2,5-Bisäthyleniminobenzochinon-1,4.

Drosophila-Stämme unterschiedlich sein können. Wenn solche Differenzen auf einer erhöhten Mutabilität einzelner Gene oder Chromosomenregionen beruhen und die Mutagene eine generelle Steigerung der spontanen Mutabilität bewirken, können Verteilungsunterschiede vorgetäuscht werden, die in Wirklichkeit nicht durch eine spezifische Wirkung der Mutagene verursacht sind. Wir suchten daher zunächst ein Bild der Verteilung spontaner Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms unseres Berlin-wild-Stammes von *Drosophila melanogaster* zu erhalten, um eine sichere Vergleichsgrundlage zu gewinnen für das Verhalten von Mutationen, die mit 2,5-Bisäthyleniminobenzochinon-1,4 (Chinon I, Bayer G 4073) (Domagk, Petersen und Gauss 1954) in Mutationsversuchen von H. Lüers (1956) erhalten worden waren. Die von Belitz (1954) und Fahmy und Fahmy (1956) beschriebenen Verteilungen aus Versuchen mit Triäthylenmelamin (TEM; 2,4,6-Triäthylenimino-1,3,5-triazin) sollen ebenfalls in den Vergleich einbezogen werden.

Material und Methodik

Aus den genannten Mutationsexperimenten mit Chinon I stand uns ein großes Material geschlechtsgebundener Erbänderungen aus 2 Versuchen zur Verfügung. Aus dem ersten Versuch wurden alle, d. h. insgesamt 132 mutierte X-Chromosomen, von denen die meisten eine rezessive Letalwirkung besaßen, analysiert. Aus dem zweiten Versuch wurden wahllos 74 mutierte Geschlechtschromosomen herausgegriffen. Die beiden Versuche unterschieden sich in ihren Mutationsraten, die im Versuch 1 in den Serien I—III im Mittel 5,5% betrugen, in den ersten 3 des über 10 Serien ausgedehnten zweiten Versuchs 10,0%[1]. Außerdem wurden alle in den letzten Jahren in unserem Laboratorium aufgefundenen spontanen Mutationen aus Kontrollversuchen und negativen Mutationsexperimenten mit Mutationsraten unter 0,5% gesammelt und von ihnen 102 untersucht. Die genetische Analyse erfolgte im Rückkreuzungsverfahren mit einem *Xple*-Stamm, dessen Geschlechtschromosom durch die Faktoren *sc* (Locus 0,0), *ec* (5,5), *ct* (20,0), *v* (33,0), *g* (44,4) und *f* (56,7) markiert war. Von jeder Mutation wurden in der F_2R mindestens 200 Männchen (in den meisten Fällen weit mehr) und alle Weibchen klassifiziert. Alle Mutationsversuche wurden mit dem Stamm Berlin wild durchgeführt, die Erfassung der Mutationen erfolgte nach der *Muller*-5-Methode. Die Nachkommenschaften der *P*-Männchen waren in allen Versuchen getrennt untersucht worden. Dadurch konnte die Identität von Mutationen, die von ein und demselben Männchen geliefert worden waren, nach der genetischen Analyse beurteilt werden, soweit das Lokalisationsverfahren eine derartige Entscheidung zuläßt. Gruppen vermutlich identischer Mutationen wurden bei der Auswertung als *eine* Erbänderung behandelt. Die Ergebnisse würden sich aber auch bei Einbeziehung dieser Fälle nicht ändern, zumal in den ersten Serien der Versuche nur wenige Gruppen möglicherweise identischer Mutationen aufgefunden worden sind.

Versuchsergebnisse

I. Spontane Mutationen

Von den 102 untersuchten spontanen Erbänderungen stammen 37 aus verschiedenen Kontrollversuchen, 65 aus Mutationsexperimenten, in denen die Mutationsraten unter 0,5% lagen und sich eine Steigerung der Mutationsraten gegenüber den unbehandelten Kontrollen nicht nachweisen ließ. Ein Vergleich dieser beiden Gruppen mittels des χ^2-Verfahrens zeigt eine gute Übereinstimmung hinsichtlich der Verteilung der Erbänderungen über die genetische Karte des Geschlechtschromosoms ($P = 0{,}46$), so daß beide Gruppen zusammengefaßt werden können. 17 (= 16,7%) der 102 spontanen Mutationen zeigen eine rezessiv

[1] Die Serien („broods") waren durch Paarung der behandelten *P*-Männchen mit neuen virginen Weibchen in Abständen von jeweils 3 Tagen gewonnen worden.

sichtbare Wirkung, die z.T. mit einer deutlichen Senkung der Vitalität und Fertilität verbunden ist. Die übrigen Erbänderungen sind Letalfaktoren sensu stricto. Die sichtbaren Mutationen sind in Tabelle 1 aufgeführt unter Angabe der ermittelten Loci und einer kurzen Charakterisierung. Die Verteilung aller spontanen Mutationen (einschließlich der sichtbaren) über die genetische Karte des X-Chromosoms ist in Tabelle 4 enthalten. Wir begnügten uns mit einer Einteilung des Chromosoms in 6 Regionen, die durch die Lage der Markierungsgene gegeben sind. Die Verteilung ist charakterisiert durch das Maximum in der Region *sc-ec*, wo etwa ein Drittel aller spontanen Erbänderungen liegt. Unter den sichtbaren Mutationen ist das Maximum am linken Chromosomenende noch stärker ausgeprägt (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Die unter den spontanen Erbänderungen aufgefundenen sichtbaren Mutationen*

Locus	Kurze Charakterisierung der Imagines
0,0	klein, Abdomen gelblich
0,0	klein
0,0	klein
0,0	klein
0,0	klein
0,0	klein (unvollständige Penetranz)
0,0	Augen rauh, Flügel nach unten gebogen
26,0	kurze Borsten
28,8	kleine Flügel
36,2	*furrowed*-ähnlich
40,7	Flügel aufwärts gebogen oder nicht entfaltet
42,3	Flügel aufwärts gebogen oder nicht entfaltet
48,0	klein mit kleinen Flügeln
49,3	Flügel uneben
55,6	klein mit abnormen Flügeln
61,2	Unterseite des Abdomens verdickt, mit braunen Längsstreifen
70,0	klein; Flügel leicht gespreizt, Borsten dünn, Tarsen oft verkrüppelt

II. Durch 2,5-Bisäthyleniminobenzochinon-1,4 induzierte Mutationen

Diese Mutationen stammen, wie bereits gesagt, aus 2 Mutationsversuchen, deren Mutationsraten sich etwa wie 1:2 verhielten. Im Versuch 1 fanden wir bei der genetischen Analyse unter den 132 untersuchten Chromosomen 14 (10,6%), die mit einer kreuzungsanalytisch feststellbaren Chromosomenaberration verbunden waren, im Versuch 2 unter den 74 getesteten Chromosomen 11 (14,9%). Die bei den Chromosomenmutationen aufgefundenen Austauschstörungen betreffen jeweils verschiedene Abschnitte des X-Chromosoms. Die entsprechenden Daten sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Es läßt sich aus der genetischen Analyse kein Hinweis auf eine erhöhte Bruchhäufigkeit bestimmter Regionen ableiten. Ferner ermittelten wir die Loci von insgesamt 188 Punktmutationen. Dabei wurden in Versuch 1 2, in Versuch 2 5 Chromosomen gefunden, die jeweils 2 Punktmutationen enthielten. Der Anteil der sichtbaren Mutationen betrug 15 (12,5%) in Versuch 1 und 10 (14,7%) in Versuch 2. Eine Zusammenstellung dieser 25 Mutationen erfolgte in Tabelle 3. Bemerkenswert erscheint uns dabei die große Häufigkeit von Mutationen in der Region *g-f* (von 44,4 bis 56,7).

Die Verteilung aller Punktmutationen ist für beide Chinon I-Versuche getrennt in Tabelle 4 dargestellt. Die Tabelle enthält im oberen Teil die absoluten

Tabelle 2. *Die durch Chinon I induzierten Chromosomenmutationen mit den Regionen signifikanter Austauscherniedrigung* ($n = 25$)

Region	Versuch 1	Versuch 2
sc-v	4	1
sc-f	2	2
ec-ct	1	4[1]
ec-f	1	—
ct-f	1	3[2]
v-g	—	1
v-f	3[3]	—
Notch-Defizienz	1[4]	
cut-Defizienz	1	

[1] Männchen mit blasigen Flügeln.
[2] Flügel bei beiden Geschlechtern nach oben gebogen.
[3] Männchen mit dünnen Borsten; Flügel oft gespreizt und am Innenrand eingekerbt.
[4] Weibchen *Notch*.

Die in den Fußnoten beschriebenen sichtbaren Wirkungen beziehen sich auf je einen Fall der entsprechenden Gruppe.

Tabelle 3. *Phänotyp und Locus der durch Chinon I induzierten sichtbaren Mutationen*

Locus	Kurze Charakterisierung der Imagines
0,0	klein; verspäteter Schlupftermin
0,0	klein
0,0	Borsten kurz, dünn, oft umgeknickt
0,0	Borsten kurz, Imagines z. T. *giant*-ähnlich
0,0	*giant*-ähnlich
8,9	Borsten klein und dünn, Körper gelblich pigmentiert
12,3	Augen klein, rauh
15,0	Augen klein, rauh
16,9	Flügel kurz, dunkel
ec-ct	(nicht lokalisierbar) IV. und V. Flügelader ± reduziert, Flügel oft kleiner oder blasig
30,7	Beine brechen beim Schlüpfen meist ab
33,0	großes Abdomen
42,1	*wavy*-ähnlich
49,9	Flügel zerknittert oder nicht entfaltet
50,0	Flügel gespreizt, Thorax z. T. gespalten
52,0	*vestigial*-ähnlich
52,0	dominant; *Bag*-ähnlich, homozygot letal
54,1	Flügel etwas kleiner oder uneben
54,1	*rudimentary*-ähnlich
54,7	*rudimentary*-ähnlich
54,7	klein mit kleinen Augen und z. T. kleineren Flügeln
55,2	*rudimentary*-ähnlich
g-f	(nicht lokalisierbar) Imagines z. T. kleiner, Flügel nicht entfaltet
61,0	Flügel klein, dunkel; Augen rauh
66,6	Flügel zerknüllt und/oder gespreizt, oft seitlich stark nach unten gebogen

Zahlen der lokalisierten Mutationen und ihre Häufigkeit in den einzelnen Regionen, im unteren Teil sind für die einzelnen Regionen und die Gesamtverteilung

die nach dem χ^2-Verfahren errechneten P-Werte eingetragen. Außerdem sind die von Fahmy und Fahmy (1956) und Belitz (1954) erhaltenen Verteilungen durch Triäthylenmelamin induzierter Mutationen aufgenommen worden. Der Vergleich der Daten zeigt zunächst die ausgezeichnete Homogenität der Verteilungen der aus den beiden Chinon I-Versuchen erhaltenen Mutationen ($P = 0{,}93$). Die Ergebnisse

Tabelle 4

Oberer Teil: Verteilung der spontanen sowie der durch Chinon I und TEM induzierten Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*.

Unterer Teil. Vergleich dieser Verteilungen untereinander. Für die einzelnen Regionen und für die Gesamtverteilungen sind jeweils die nach dem χ^2-Verfahren errechneten P-Werte eingetragen.

	Chromosomenregion												Summe
	sc-ec		*ec-ct*		*ct-v*		*v-g*		*g-f*		*f*-SpA		
	n	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	*n*	%	
Spontan	33	32,4	16	15,7	11	10,8	15	14,7	17	16,7	10	9,8	102
Chinon I, Vers. 1 . .	17	14,2	20	16,7	21	17,5	12	10,0	25	20,8	25	20,8	120
Chinon I, Vers. 2 . .	10	14,7	11	16,2	11	16,2	9	13,2	16	23,5	11	16,2	68
TEM (Belitz 1954) .	31	20,5	21	13,9	18	11,9	21	13,9	25	16,6	35	23,2	151
TEM (Fahmy und Fahmy 1956) . . .	56	20,4	26	9,5	39	14,2	39	14,2	46	16,8	68	24,8	274
Chinon I, Vers. 1 / Chinon I, Vers. 2	0,89		0,96		0,81		0,50		0,66		0,42		0,93
Chinon I (Gesamt) / Spontan	0,0003		0,86		0,16		0,34		0,30		0,037		0,0007
TEM (Belitz) / Spontan	0,035		0,70		0,79		0,86		1,00		0,006		0,02
TEM (Belitz) / TEM (Fahmy)	1,00		0,17		0,50		1,00		1,00		0,72		0,78
TEM (Gesamt) / Spontan	0,01		0,19		0,48		0,88		1,00		0,002		0,002
TEM (Belitz) / Chinon I (Gesamt)	0,13		0,50		0,18		0,44		0,23		0,36		0,20
TEM (Gesamt) / Chinon I (Gesamt)	0,07		0,06		0,24		0,32		0,13		0,16		0,02

Anmerkung bei der Korrektur: Das von uns untersuchte Material ist als homogen anzusehen im Sinne einer soeben erschienenen Arbeit von Stern (1957). Das gilt dagegen nicht für die Einbeziehung der Daten aus der zitierten Arbeit von Fahmy und Fahmy (1956), die sowohl die Mutations- wie die Lokalisationsversuche mit anderen *Drosophila*-Stämmen durchgeführt haben. Dennoch erscheint uns die Aufname dieser Daten in die obige Tabelle bei der von uns gewählten Einteilung des X-Chromosoms in nur 6 größere Abschnitte erlaubt.

sind demnach gut reproduzierbar und unabhängig von der Höhe der Mutationsrate (Höhe der Dosis des Mutagens). Mit einem P von 0,78 besteht auch eine gute Übereinstimmung zwischen unseren TEM-induzierten Erbänderungen und denen von Fahmy und Fahmy, wenn auch der P-Wert von 0,17 für die Region *ec-ct* verhältnismäßig niedrig ausfällt. Die Übereinstimmungen in den übrigen Regionen und der Gesamtverteilungen sind jedoch so gut, daß wir das TEM-Material für weitere Vergleiche zusammenfassen können. Die Tabelle zeigt ferner,

daß die Differenzen zwischen der Verteilung der spontanen und Chinon I-induzierten Mutationen für das linke Chromosomenende gut, für das rechte hinreichend gesichert sind. Dasselbe gilt für den Vergleich der Verteilungen der spontanen mit unseren TEM-induzierten Erbänderungen. Der Vergleich des Chinon I-Materials mit unseren TEM-Mutationen läßt keine sichere Aussage über einen Unterschied zwischen den beiden Verteilungen zu, wenn auch der *P*-Wert für die Region *sc-ec* mit 0,13 verhältnismäßig niedrig liegt. Unter Vergrößerung durch das Material von Fahmy und Fahmy ergeben sich jedoch für die Abschnitte *sc-ec* und *ec-ct* *P*-Werte von 0,07 bzw. 0,06, die das Vorliegen einer echten Differenz wahrscheinlich machen, zumal der *P*-Wert für den Vergleich der Gesamtverteilungen nur 0,02 beträgt. Es sei außerdem darauf hingewiesen, daß beide Verteilungen der TEM-Mutationen stets in der gleichen Richtung sowohl von der Verteilung der spontanen als von denen der durch Chinon I induzierten Erbänderungen abweichen, wie ein Blick auf die Häufigkeitswerte im oberen Teil der Tabelle zeigt.

Diskussion

Die bisher in der Literatur mitgeteilten Verteilungen induzierter Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* wurden entweder mit der Verteilung der von Bridges und Brehme (1944) registrierten Erbänderungen oder mit der Verteilung durch Röntgenstrahlen induzierter Mutationen (Muller 1928, Spencer und Stern 1947) verglichen. Da alle Verteilungen mehr oder weniger übereinstimmten, besonders aber am linken Chromosomenende ein deutliches Maximum zeigten, wurde der Schluß gezogen, daß die chemischen Mutagene, ähnlich wie ionisierende Strahlen, unspezifisch wirken, d. h., daß die erhaltenen Verteilungen die Gendichte widerspiegeln. Vogt (1950) konnte aus einer Gegenüberstellung der bis dahin vorliegenden Untersuchungen noch feststellen, daß das Verhalten des linken Chromosomenendes unabhängig von der Art des angewandten Agens ist. Durch die Arbeiten von Burdette und Haddox (1952), die nach Mutationsversuchen mit Stickstofflost nur 10,9% Erbänderungen im Bereich von 0,0—9,9 fanden, Fahmy und Fahmy (1956) sowie unsere Untersuchungen kennen wir nunmehr Verteilungen, bei denen das Maximum am linken Chromosomenende weniger deutlich (TEM) oder verschwunden ist (N-Lost, Chinon I), während gleichzeitig die Häufigkeit der Mutationen am rechten Chromosomenende zunimmt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Einteilung des Chromosoms in größere Regionen ein recht grobes Verfahren darstellt, eine Einteilung in kleinere Einheiten dagegen infolge methodischer Schwierigkeiten leicht zu Fehlern führen würde. Eine eingehende Analyse würde vermutlich noch deutlichere Unterschiede zwischen den Verteilungen, auch im mittleren Teil des Chromosoms, ergeben. Die Verteilungen mit dem Maximum am linken Chromosomenende (Röntgenstrahlen, Senfgas, Äthylurethan) lassen noch die Deutung im Sinne einer generellen Steigerung der spontanen Mutationsrate der einzelnen Gene bzw. Chromosomenabschnitte durch die genannten Noxen zu. Für die Verteilungen, die nach Behandlung mit N-Lost, TEM und Chinon I erhalten wurden, muß nach einer anderen Deutung gesucht werden. Bei dem Vergleich mit Daten über die Längsgliederung des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* nach der cytologischen Chromosomenkarte fiel uns eine weitgehende Parallele auf zwischen der

Verteilung der durch Chinon I induzierten Mutationen und den absoluten Entfernungen zwischen den von uns verwendeten Markierungsgenen. Diese stimmen zugleich mit der relativen Bandenanzahl in den entsprechenden Abschnitten gut überein. So beträgt z. B. für die Region links von *ec* der Anteil der durch Chinon I erhaltenen Mutationen 14,4%, während die gleiche Strecke 11,4% der ganzen Chromosomenlänge ausmacht und etwa 12% aller Banden enthält. Diese Übereinstimmung könnte in dem Sinne gedeutet werden, daß das Chinon I Erbänderungen erzeugt, die zufallsgemäß über das Chromosom verteilt sind, unabhängig von der Gendichte, aber proportional den cytologischen Abständen oder der Anzahl der Banden. Da zufallsgemäß über das Chromosom verteilte Genmutationen der Gendichte entsprechen müßten, kann die Verteilung der durch Chinon I induzierten Erbänderungen auf einer spezifischen Wirkung des Mutagens auf einzelne Loci oder auf zufällig verteilten kleinen Stückausfällen beruhen. Für das TEM besteht hinsichtlich der zweiten Deutungsmöglichkeit von vornherein eine Einschränkung, da hier der Anteil der Erbänderungen der Region links von *ec* zu groß ist, um durch zufallsgemäß verteilte Stückausfälle erklärt zu werden. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß Fahmy und Fahmy (1955) zunächst eine Übereinstimmung feststellen konnten zwischen der Verteilung von Chromosomenbrüchen nach Behandlung mit TEM und der Literatur entnommenen Verteilungen von Brüchen nach Röntgenbestrahlung. Eine eingehendere Analyse nach Einteilung des Chromosoms in kleinere Einheiten ergab dagegen deutliche Unterschiede zwischen den Bruchverteilungen (Fahmy und Fahmy 1956). Der gleiche Einwand, den wir soeben für das TEM erhoben, gilt aber bei näherer Betrachtung auch für das Chinon I; denn von den 27 Mutationen der Region links von *ec* liegen 18 zwischen den Loci 0,0 und 1,0, dagegen nur 9 zwischen 1,0 und 5,5. Eine auffällige Häufung der durch Chinon I induzierten Mutationen findet sich ferner in dem Abschnitt zwischen 55,0 und 60,0, wo ungefähr 13% aller Punktmutationen liegen. Darüber hinaus sollte man annehmen, daß bei einer erheblichen Zunahme kleiner Stückausfälle der relative Anteil der sichtbaren Mutationen stark abnehmen müßte. Das scheint jedoch nicht der Fall zu sein, da der Anteil der sichtbaren Mutationen an den spontanen Erbänderungen 16,7% beträgt, beim Chinon I 13,3%. Außerdem zeigt die Verteilung der sichtbaren Erbänderungen eine ähnliche Tendenz wie die der Letalfaktoren.

Abschließend soll die unterschiedliche Verteilung der durch TEM und Chinon I induzierten Mutationen diskutiert werden. Domagk, Petersen und Gauss (1954) gingen bei der Synthese des Chinon I von dem Gedanken aus, eine tumorhemmende Verbindung zu schaffen, die die mitosehemmende Wirkung gewisser Chinone mit der tumorhemmenden Wirkung der Äthylenimine in sich vereinigt. Die experimentellen Erfolge, die die Autoren mit dem Chinon I erzielt haben, legen den Gedanken nahe, auch für die spezifische mutagene Wirksamkeit dieser beiden Verbindungen den gemeinsamen Besitz von Äthylenimonogruppen verantwortlich zu machen. Dafür würde z. B. auch die Beobachtung sprechen, daß das TEM mit seinen 3 Äthyleniminogruppen stärker mutagen wirkt als das Chinon I mit nur zwei solchen Gruppen (H. Lüers 1953, 1956). Die andererseits stärkere Hemmwirkung des Chinon I auf das Yoshida-Sarkom (Domagk, Petersen und Gauss 1954), sowie die stärkere Fertilitätssenkung durch das TEM im

Drosophila-Test (H. Lüers, persönliche Mitteilung) deuten dagegen auf Unterschiede in der physiologischen Wirksamkeit beider Verbindungen hin. Einen Hinweis auf eine unterschiedliche genetische Wirkungsweise liefert ein Vergleich der Brutmuster, d. h. der Mutationsraten in den aufeinanderfolgenden Serien der Mutationsversuche. Während nach Behandlung mit TEM (H. Lüers 1953) die Mutationsraten in der II. Serie im allgemeinen einen Anstieg gegenüber der I. Serie zeigen, liegen sie beim Chinon I in der II. Serie niedriger als in den Serien I und III (H. Lüers 1956 und unveröffentlicht). So mag ein Teil der Vorgänge, die bei beiden Verbindungen zur Auslösung von Mutationen führen, identisch sein, ein anderer auf Unterschieden beruhen, die vielleicht durch die Zugehörigkeit zu verschiedenen Stoffklassen gegeben sind. Man könnte sich z. B. vorstellen, daß mit der grundsätzlichen Strukturverschiedenheit eine unterschiedliche Affinität der beiden Verbindungen zu verschiedenen Teilen der Erbsubstanz verknüpft ist. Bevor eine einigermaßen befriedigende Erklärung der beobachteten Effekte möglich ist, müssen weitere Untersuchungen abgewartet werden, in die mit den geprüften Substanzen verwandte Verbindungen einbezogen werden sollen.

Zusammenfassung

1. Die Verteilung von 102 spontanen Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* zeigt ein ausgeprägtes Maximum (32,4%) in der Region *sc-ec*, ein Minimum (9,8%) in der Region *f*-Spindelfaser-Ansatzpunkt.

2. Die Verteilung von 120 und 68 durch 2,5-Bisäthyleniminobenzochinon-1,4 (Chinon I; Bayer G 4073) induzierte Erbänderungen aus 2 Mutationsversuchen ergibt eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Der Anteil von 14,4% Mutationen in der Region *sc-ec* bzw. 19,1% in der Region *f*-Spindelfaser-Ansatzpunkt läßt sich gegenüber der Verteilung spontaner Mutationen gut bzw. schwach sichern.

3. Die früher beschriebene Verteilung von 151 durch Triäthylenmelamin induzierten Mutationen läßt sich gegenüber der abweichenden Verteilung der spontanen Mutationen für die Regionen *sc-ec* und *f*-SpA ebenfalls statistisch sichern.

4. Der Vergleich der 151 durch Triäthylenmelamin induzierten Erbänderungen mit einem entsprechenden Material von Fahmy und Fahmy (1956) zeigt eine gute Homogenität. Durch die Zusammenfassung dieses Materials lassen sich Unterschiede zwischen den Verteilungen der durch TEM und Chinon I induzierten Mutationen wahrscheinlich machen.

Literatur

Belitz, H. J.: Genetische Analyse spontaner und induzierter Mutationen des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **86**, 173—184 (1954). — Bridges, C. B., and K. S. Brehme: The mutants of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Publ. **1944**, 552. — Burdette, W. J., and C. H. Haddox: Analysis of lethals occurring after chemical treatment. D. I. S. **26**, 93—94 (1952). — Domagk, G., S. Petersen u. W. Gauss: Ein Beitrag zur experimentellen Chemotherapie der Geschwülste. Z. Krebsforsch. **59**, 617 bis 622 (1954). — Fahmy, O. G., and M. J. Fahmy: Cytogenetic analysis of the actions of

carcinogens and tumour inhibitors in *Drosophila melanogaster*. III. Chromosome structural changes induced by 2:4:6-tri(ethyleneimino)1:3:5-triazine. J. Genet. **53**, 181—199 (1955). — V. Differential genetic response to the alkylating mutagens and X-radiation. J. Genet. **54**, 146—164 (1956). — Lüers, H.: Untersuchung über die Mutagenität des Triäthylenmelamin (TEM) an Drosophila *melanogaster*. Arch. Geschwulstforsch. **6**, 77—83 (1953). — Chinon I und Sanamycin im Mutationsversuch. Naturwiss. **43**, 206 (1956). — Muller, H. J.: The problem of genic modification. Verh. 5. Kongr. für Vererb., 1927. Z. Vererbungslehre Suppl. **1**, 234—260 (1928). — Oliver, C. P.: An analysis of the effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutations. Z. Vererbungslehre **61**, 447—488 (1932). — Slizynska, H., and B. M. Slizynski: Genetical and cytological studies of lethals induced by chemical treatment in *Drosophila melanogaster*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh **62**, 234—242 (1947). — Spencer, W. P., and C. Stern: Experiments to test the validity of linear r-dose/mutation frequency relation in *Drosophila* at low dosage. Genetics **33**, 43—74 (1948). — Stern, C.: A note on the detection of differential effects of mutagens. J. Genet. **55**, 276—279 (1957). — Vogt, M.: Analyse durch Äthylurethan bei *Drosophila* induzierter Mutationen. Z. Vererbungslehre **83**, 324—340 (1950).

Dr. H. J. Belitz,
Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie
(Abteilung Lüers) Berlin-Dahlem

Band 88

Inhalt

3. Heft

Seite

Anders F., Über die geschlechtsbeeinflussende Wirkung von Farballelen bei *Gammarus pulex* SSP. *subterraneus* (Schneider) 291

Becker, H. J., Über Röntgenmosaikflecken und Defektmutationen am Auge von *Drosophila* und die Entwicklungsphysiologie des Auges. Mit 13 Textabbildungen 333

Hoffmann, A., Untersuchungen über die Geschlechtsdifferenzierung bei haploiden und diploiden Gametophyten von *Barbula unguiculata* (Hudson) Hedwig. Mit 13 Textabbildungen 374

Freese, E., Über die Feinstruktur des Genoms im Bereich eines Pab locus von *Neurospora crassa*. Mit 8 Textabbildungen 388

Mundry, K.-W., Die Abhängigkeit des Auftretens neuer Virusstämme von der Kulturtemperatur der Wirtspflanzen. Mit 12 Textabbildungen 407

Scossiroli, Renzo E., and Inge E. Rasmussen, Paper Partition Chromatography of Interspecific Hybrids in the Genus *Drosophila*. With 8 Figures in the text 427

Belitz, H. J., Vergleichende Untersuchung der Verteilung spontaner und durch Chinon I (Bayer G 4073) induzierter Mutationen über die genetische Karte des X-Chromosoms von *Drosophila melanogaster* 434

Aufnahmebedingungen

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt **Korrekturkosten** nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskriptteile sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z.B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z.B. Sax, K.: Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. Genetics 32, 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.

Zwerchfellpathologie im Röntgenbild

Von Dr. med. **Richard Haubrich**, apl. Professor für Röntgenologie und Strahlenheilkunde an der Universität Bonn. Mit 210 Abbildungen. VII, 303 Seiten 4°. 1956. Ganzleinen DM 98.40

Inhaltsverzeichnis: Allgemeiner Teil. I. Anatomie des Zwerchfells. Embryologie. Anatomie, Histologie und Topographie. Innervation. — II. Physiologie des Zwerchfells. Stand des Zwerchfells. Form des Zwerchfells. Zwerchfellbewegung. Funktionsprüfung. — III. Pathologische Physiologie. Hochstand. Tiefstand. Pathologische Bewegung. Indirekte Röntgenzeichen der gestörten Zwerchfellfunktion. — IV. Das Zwerchfell im Pneumothorax, Pneumoperitoneum und Pneumoretroperitoneum. Pneumothorax. Pneumoperitoneum. Pneumoretroperitoneum. — **Spezieller Teil.** V. Zwerchfell und Pleuritis. Diaphragmale Pleuritis. Diaphragmale Pleuraschwarte. — VI. Das Zwerchfell bei Lungen- und Herzkrankheiten. Lungenkrankheiten. Herzkrankheiten. — VII. Das Zwerchfell bei Bauchkrankheiten. — VIII. Zwerchfellverletzungen. Subcutane Zwerchfellverletzungen (einschließlich der sog. Spontanruptur). Schuß- und Stichverletzungen des Zwerchfells: Röntgenologische Frühbefunde. Röntgenologische Spätbefunde. — IX. Zwerchfellhernien und -prolapse. Allgemeines. Die parasternale Hernie. Lumbocostale Hernien und Prolapse. Die anderen kongenitalen Hernien und Prolapse. Prolaps durch einen traumatischen Zwerchfelldefekt. Anhang: Zwerchfelldefekte auf entzündlich-nekrotischer Grundlage. — X. Hiatushernien. Allgemeines. Kongenital kurzer Oesophagus (mit Thoraxmagen). Paraoesophageale Hernien. Gleitbruch (oesophagogastrische Hernie). — XI. Zwerchfell-Lähmung. Zwerchfellparalyse. Zwerchfellparese. Die sog. Relaxatio hemidiaphragmatica (totalis). Partielle Relaxation (Paralyse und Parese). — XII. Zwerchfelltumoren. Primäre Geschwülste. Sekundäre Geschwülste. — Jeder Abschnitt enthält ein Literaturverzeichnis. — Namen- und Sachverzeichnis.

Seit dem Erscheinen des längst vergriffenen Buches „Das Zwerchfell im gesunden und kranken Zustand" von Hitzenberger (1927) hat sich eine nahezu unübersehbare Fülle von Einzelpublikationen über die zwerchfellnahen und -eigenen Krankheiten angesammelt; allein die neuere kasuistische Literatur über die verschiedenen Formen der Zwerchfell-„brüche" umfaßt einige Tausend Titel. Sie alle werden im vorliegenden Werk nach ihrer Bedeutung für die Klinik gesichtet und in Verbindung mit den in der Zwischenzeit erarbeiteten Grundzügen der pathologischen Physiologie des Zwerchfells gebracht. Dabei steht die Röntgenuntersuchung naturgemäß ganz im Vordergrund. Den einleitenden Abschnitten über die Entwicklung, Anatomie, normale und pathologische Physiologie des Zwerchfells folgen spezielle Kapitel über die Zwerchfellbefunde bei Krankheiten der benachbarten Brust- und Bauchorgane. Den Abschnitten über die direkten und indirekten Zwerchfellverletzungen, über die Hernien und Prolapse am Zwerchfell und die Hiatushernien schließen sich eigene Kapitel über die Zwerchfell-Lähmung und die diaphragmalen Geschwülste an. Auf der Grundlage pathologisch-anatomischer, operativer und klinisch gesicherter Befunde wird die Klinik aller dieser Alterationen im engeren Zusammenhang mit ihrem röntgenologischen Erscheinungsbild übersichtlich dargestellt, wobei die spezielle Funktionsdiagnostik des Zwerchfells den gebührenden Platz erhält. Es wird von der umfassenden Monographie neben dem interessierten Pathologen und dem praktischen Röntgenologen insbesondere der große Kreis von Klinikern angesprochen, dem die originalen Krankheiten ebenso wie die Miterkrankungen des Zwerchfells ständig begegnen.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg
Printed in Germany